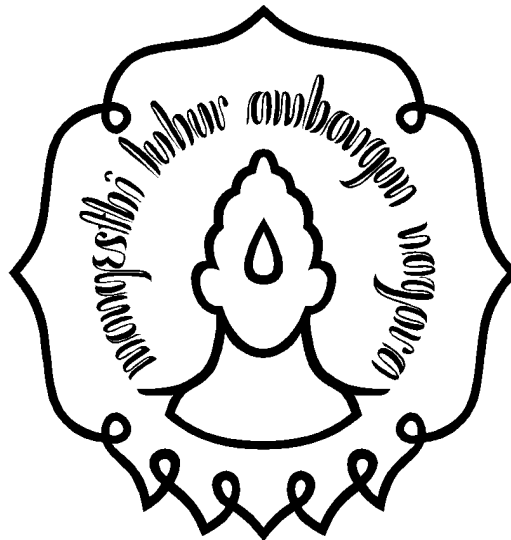


UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK BUAH PARE BELUT

(Trichosanthes anguina L.)



Disusun oleh:

RETNO CANDRA DEWI

M0304059

SKRIPSI

Ditulis dan diajukan untuk memenuhi
sebagian persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains Kimia

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

SURAKARTA

2009

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Venty Suryanti, M.Phil
NIP 19720817 199702 2001

Ahmad Ainurofiq, M.Si., Apt.
NIP 19780319 200501 1003

Dipertahankan di depan TIM Penguji Skripsi pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 23 Juni 2009

Anggota TIM Penguji :

1. Soerya Dewi Marliyana, M.Si.
19690313 199702 2001

1.

2. Dra. Tri Martini, M.Si.
19581029 198503 2002

2.

Disahkan oleh

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sebelas Maret Surakarta

Ketua Jurusan Kimia,

Drs. Sentot Budi Rahardjo, PhD

NIP. 19560507 198601 1001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi saya yang berjudul “AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK BUAH PARE BELUT (*Trichosanthes anguina* L.)” adalah benar-benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Juni 2009

Retno Candra Dewi

ABSTRAK

Retno Candra Dewi, 2009. UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK BUAH PARE BELUT (*Trichosanthes anguina* L.). Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret.

Penelitian tentang uji aktivitas antijamur ekstrak buah pare belut telah dilakukan terhadap beberapa jamur patogen. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut lain yang semakin meningkat kepolarannya, yaitu heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol. Ekstrak yang diperoleh ditentukan aktivitas antijamurnya dengan metode difusi agar, kemudian dilakukan identifikasi komponen kimia ekstrak aktif dengan penapisan fitokimia dan uji penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji banding terhadap standar mikonazol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kloroform, etil asetat, dan butanol buah pare belut mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, tetapi tidak terhadap *Aspergillus niger*, *Microsporum gypseum* dan *Tricophyton sp.* Ekstrak kloroform mempunyai aktivitas antijamur tertinggi terhadap *C. albicans*, diikuti ekstrak etil asetat dan ekstrak butanol. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak-ekstrak aktif mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolat, flavonoid, dan terpenoid. KLT terhadap ekstrak kloroform menunjukkan adanya golongan alkaloid, tanin, fenolat, flavonoid, dan terpenoid. KHM ekstrak kloroform terhadap *C. albicans* adalah 6,25 mg/mL. Nilai banding ekstrak kloroform konsentrasi 100 mg/mL terhadap standar mikonazol adalah 0,036%.

Kata kunci: *Trichosanthes anguina* L., uji aktivitas antijamur, *Candida albicans*, Penapisan Fitokimia, KLT, KHM.

ABSTRACT

Retno Candra Dewi, 2009. ANTIFUNGAL ACTIVITY ASSAY OF SNAKE GOURD (*Trichosanthes anguina* L.) EXTRACT. Thesis. Chemistry Department, Mathematics and Sciences Faculty of Sebelas Maret University.

The research of antifungal activity of snake gourd (*Trichosanthes anguina* L.) extracts against pathogenic fungi have been carried out. The extract was achieved by maceration method using methanol and then continued using other solvent with increasing polarity; hexane, chloroform, ethyl acetate, and butanol, respectively. Antifungal activity of extracts were analyzed using diffusion method, continued with compound identification of the active extracts by phytochemical screening and analysis with Thin Layer Chromatography (TLC). To the highest active extract, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined and compared with miconazole as standard.

The results of this research show that chloroform, ethyl acetate, and butanol extracts of snake gourd have antifungal activity for *Candida albicans*, but do not inhibit the growth of *Aspergillus niger*, *Microsporum gypseum*, and *Tricophyton sp.* Chloroform extract has the highest antifungal activity against *C. albicans*, followed by ethyl acetate and butanol extracts, respectively. The phytochemical screenings analysis show that active extracts contain alkaloids, saponins, tannins, phenolics, flavonoids, and terpenoids compounds. TLC of chloroform extract shows the presence of alkaloids, tannins, phenolics, flavonoids, and terpenoids. MIC of chloroform extract against *C. albicans* is 6.25 mg/mL. The equivalent value of 100 mg/mL chloroform extract compared with miconazole is 0.036%.

Keywords: *Trichosanthes anguina* L., antifungal assay, *Candida albicans*, Phytochemical Screening, TLC, MIC.

MOTTO

- ❖ Sesungguhnya sholatku, ibadahku, hidup dan matiku hanyalah untuk Allah SWT, Tuhan Semesta Alam. (Q. S. Al an`am : 162)
- ❖ Dengan ilmu kehidupan menjadi mudah, dengan seni kehidupan menjadi indah, serta dengan agama kehidupan menjadi bermakna dan terarah. (H. A. Mukti Ali).
- ❖jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu.... (Al Baqarah : 153).
- ❖ Sabar adalah sikap utama dalam menjalani kesulitan, agar menuju kemenangan gemilang. Sabar bukan berarti pasrah terhadap keadaan, namun sikap tenang dalam mencari penyelesaian. (Syeh Abdul Kadir Al-Jaelani).

PERSEMBAHAN

*Skripsi ini kupersembahkan untuk:
Allah SWT, terima kasih untuk hidup
dan selalu menjadi tempatku meminta*

*Bapakku Sumidi dan almarhumah ibu
tercinta yang telah membesarkan,
mendidik, dan membimbing dengan
segenap kasih sayang dan doa*

*Kakakku Bambang Ristono, ST dan
adikku Candra yang telah bersama-
sama berbagi kasih dalam suka dan
duka serta tante ku yang telah
mengasihiku*

*Untuk Budi yang telah memberikan
dukungannya selama ini.*

Cewek 9+ (We are friends forever)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “**AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK BUAH PARE BELUT (*Trichosanthes anguina* L.)**”. Sholawat dan salam senantiasa penulis sampaikan kepada Rasulullah SAW sebagai pembimbing seluruh umat manusia.

Skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya bantuan dari banyak pihak, karena itu dengan kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. Sentot Budi Rahardjo, PhD. selaku Ketua Jurusan Kimia.
2. Ibu Venty Suryanti, M. Phil. selaku pembimbing pertama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, saran dan masukan untuk terselesaikannya skripsi ini.
3. Bapak Ahmad Ainurofiq, MSi, Apt selaku pembimbing kedua yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, saran dan masukan untuk terselesaikannya skripsi ini.
4. Ibu Soerya Dewi Marliyana, MSi, Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.
5. Ibu Sholichatun, M.Si. selaku Ketua Sub Laboratorium Biologi Laboratorium Pusat FMIPA UNS, Bapak Susilo, Bapak Hartono, dan staff lainnya.
6. Bapak I.F. Nurcahyo, M.Si. selaku Ketua Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS beserta staffnya : Mbak Nanik dan Mas Anang.
7. Teman-teman seperjuangan (Maya, V3, Tristiyanto, Indah, Rizal, Rikha, TW, Tika, Astri, Sri, Desi) dan kimia angkatan 2004 yang selalu kompak dan selalu memberikan dukungan serta doa.
8. Pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT membalas jerih payah dan pengorbanan yang telah diberikan dengan balasan yang lebih baik. Amin.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran untuk penyempurnaan

skripsi ini. Namun demikian, penulis berharap semoga karya ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan kita semua. Amin.

Surakarta, Juni 2009

Retno Candra Dewi

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	2
1. Identifikasi Masalah.....	2
2. Batasan masalah.....	3
3. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.	4
BAB II. LANDASAN TEORI	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Tanaman Pare belut (<i>Trichosanthes anguina</i> L.....	5
2. Jamur.....	7
3. Antijamur	12
4. Obat Antijamur Mikonazol dan Senyawa-Senyawa Metabolisme Sekunder yang Mempunyai Aktivitas Antijamur	13

5. Metode Pengujian Aktivitas Antijamur.....	25
6. Ekstraksi Maserasi dan Ekstraksi Bertahap	26
7. Penapisan Fitokimia	27
8. Uji Penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	29
9. Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Uji Banding.....	33
B. Kerangka Pemikiran.....	33
C. Hipotesis.....	34
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	35
A. Metode Penelitian	35
B. Tempat dan Waktu Penelitian	35
C. Alat dan Bahan	35
D. Prosedur Penelitian	37
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	43
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	58
A. Kesimpulan	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Kental Pare Belut Terhadap Jamur <i>C. albicans</i> dengan Metode Perforasi	46
Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Kental Pare Belut Terhadap Jamur <i>Tricophyton sp</i> , <i>A. Niger</i> ; dan <i>M. gypseum</i> dengan Metode Gores Silang	46
Tabel 3. Hasil Ekstraksi Bertahap Ekstrak Metanol Kental	48
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak – ekstrak Hasil Ekstraksi Bertahap terhadap Jamur <i>C. Albicans</i>	49
Tabel 5. Hasil Pengujian Golongan Senyawa Ekstrak Metanol, Kloroform, Etil asetat, dan Butanol.....	51
Tabel 6. Hasil Uji Kualitatif Dengan KLT Ekstrak Kloroform Pare Belut.....	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman pare belut (<i>Trichosanthes anguina</i> L.)	5
Gambar 2. Struktur senyawa tanin.....	15
Gambar 3. Senyawa – senyawa golongan flavonoid.....	17
Gambar 4. Struktur beberapa terpenoid.....	19
Gambar 5. Struktur beberapa alkaloid	20
Gambar 6. Struktur beberapa saponin	22
Gambar 7. Struktur beberapa fenol.....	24
Gambar 8. Struktur beberapa fenolat.....	25
Gambar 9. Perkiraan reaksi uji wagner	28
Gambar 10. Reaksi hidrolisis saponin dalam air	28
Gambar 11. Perkiraan reaksi uji tanin dengan FeCl ₃	29
Gambar 12. Reaksi uji flavonoid.....	29
Gambar 13. Reaksi uji terpenoid dengan vanillin – H ₂ SO ₄	31
Gambar 14. Reaksi uji Dragendorf.....	32
Gambar 15. Reaksi uji KLT flavonoid dengan AlCl ₃	32
Gambar 16. Grafik log konsentrasi mikonazol (mg/mL) terhadap diameter hambat (mm) terhadap jamur <i>C. albicans</i>	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan Cara Kerja Penelitian	65
Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Buah Pare Belut	66
Lampiran 3. Bagan Cara Kerja Pengujian Antijamur	67
Lampiran 4. Perhitungan Konversi Satuan dalam Pembuatan Sampel.....	70
Lampiran 5. Bagan Ekstraksi Buah Pare Belut dengan Berbagai Pelarut	72
Lampiran 6. Prosedur Pembuatan Reagen	73
Lampiran 7. Perhitungan Rendemen.....	74
Lampiran 8. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol	75
Lampiran 9. Foto Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Pare Belut Terhadap <i>C. albicans</i>	76
Lampiran 10. Perhitungan Statistik Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol	78
Lampiran 11. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak-Ekstrak Buah Pare Belut	82
Lampiran 12 Foto Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Hasil Ekstraksi Bertahap.....	83
Lampiran 13. Perhitungan Statistik Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak-Ekstrak Pare Belut	84
Lampiran 14. Hasil Penapisan Fitokimia Terhadap Ekstrak Pare Belut	87
Lampiran 15. Tabel Hasil KLT Ekstrak Kloroform	88
Lampiran 16. Gambar dan Foto Hasil Uji KLT Ekstrak Kloroform Pare Belut	89
Lampiran 17. Hasil Pengujian KHM Ekstrak Kloroform	93
Lampiran 18. Foto Hasil Pengujian KHM Ekstrak Kloroform	94
Lampiran 19. Perhitungan Statistik Hasil Uji KHM Ekstrak Kloroform Pare Belut	95
Lampiran 20. Hasil Uji KHM Mikonazol	98
Lampiran 21. Foto Hasil Uji KHM Mikonazol	99

Lampiran 22. Perhitungan Statistik Hasil Uji KHM Standar Mikonazol ...	100
Lampiran 23. Perhitungan Konsentrasi Mikonazol dengan Kurva Standar	103
Lampiran 24. Penetapan Nilai Uji Banding	104

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis dan kaya flora fauna, serta sumber daya alam lainnya. Sebagian besar dari keanekaragaman hayati tersebut dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat, tetapi keanekaragaman hayati tersebut belum dapat dimanfaatkan secara optimal, sehingga harus dilestarikan dan dimanfaatkan dengan baik.

Suku *cucurbitaceae* dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Selain itu, suku *cucurbitaceae* juga dapat digunakan sebagai sayuran (Tjitrosoepomo, 1989). Tumbuhan suku *cucurbitaceae* dapat bermanfaat sebagai antijamur. Beberapa penelitian mengenai aktivitas antijamur suku *cucurbitaceae* telah dilakukan. Penelitian Swamy and Jayaveera (2007) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Momordica cymbalaria* mempunyai aktivitas antijamur terhadap jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Penelitian Sunarti (2000) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun pare mempunyai aktivitas antijamur terhadap jamur *C. albicans*. Selain itu, ekstrak metanol biji dan daun ketimun juga memiliki aktivitas antijamur terhadap *Cladosporium cucumerinum* (Fawe, Zaid, Menzies, and Belanger; 1998).

Pare belut (*Trichosanthes anguina* L.) merupakan salah satu tanaman dari famili *cucurbitaceae*. Menurut Kristinawati (2004), identifikasi dengan penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare belut mengandung alkaloid, tanin dan polifenol, saponin, kardenolin/butadienol dan flavonoid. Senyawa-senyawa antijamur umumnya terdapat pada golongan senyawa fenol, terpenoid (Harliana, 2006), flavonoid, saponin dan alkaloid (Padmawinata, 1995).

Berdasarkan kandungan senyawa yang dimiliki yang telah dilaporkan oleh Kristinawati (2004), pada buah pare belut mempunyai potensi sebagai antijamur. Maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji secara ilmiah aktivitas antijamur pada ekstrak buah pare belut sebagai antijamur terhadap jamur *C. albicans*, *M. gypseum*, *Tricophyton sp* dan *A. niger*.

Perumusan Masalah

1. Apakah salah

Buah pare belut yang berasal dari daerah yang berbeda mempunyai kandungan yang berbeda pula. Hal ini dipengaruhi oleh keadaan iklim dan keadaan tanah.

Isolasi komponen kimia dari suatu bahan alam dapat dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi. Pemilihan pelarut yang tepat dalam proses isolasi sangat penting. Pelarut yang dapat digunakan untuk mengisolasi komponen kimia dengan kepolaran rendah adalah heksana, petroleum eter, benzena dan toluena sedangkan untuk mengisolasi senyawa yang lebih polar dapat digunakan kloroform, etil asetat, butanol, etanol, metanol dan air. Hasil isolasi dengan pelarut yang berbeda akan menghasilkan ekstrak dengan komponen kimia yang berbeda pula dan hal tersebut dapat mempengaruhi aktivitas antijamur ekstrak.

Identifikasi golongan senyawa kimia dari suatu bahan alami dapat dilakukan dengan cara penapisan fitokimia. Penapisan fitokimia dapat dilakukan uji warna atau pengendapan yang merupakan uji pendahuluan, Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang merupakan uji penegasan dan hasil KLT dapat dilihat dengan sinar UV. Pemilihan metode uji penapisan fitokimia harus disesuaikan dengan penentuan golongan senyawa. Golongan senyawa kimia yang dapat diidentifikasi dengan cara penapisan fitokimia sangat luas, antara lain saponin, fenolat, flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, tanin dan polifenol.

Pengujian aktivitas antijamur dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode perforasi (lubang), cakram kertas dan metode gores silang. Pemilihan metode pengujian aktivitas antijamur harus tepat dan disesuaikan dengan jenis jamur yang diuji. Jenis jamur yang digunakan untuk pengujian aktivitas antijamur adalah jamur patogen. Hasil pengujian aktivitas antijamur tergantung pada kandungan komponen kimia yang berfungsi sebagai antijamur yang terdapat dalam ekstrak tersebut.

Metode yang dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan menghambat ekstrak dengan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi

Bunuh Minimum (KBM), dan nilai banding antara ekstrak aktif antijamur dengan antijamur sintetik. Pemilihan metode yang digunakan sangat penting dan harus disesuaikan dengan efektivitasnya pada sampel yang diuji.

2. Batasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah tersebut, maka dibuat batasan masalah sebagai berikut :

- a. Buah pare belut yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Sukoharjo.
- b. Isolasi komponen kimia antijamur dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut dengan kepolaran semakin meningkat dimulai dengan heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol.
- c. Penapisan fitokimia dilakukan dengan cara uji warna atau pengendapan meliputi uji alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, fenolat dan flavonoid dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi.
- d. Pengujian aktivitas antijamur pada ekstrak dilakukan dengan metode perforasi dan gores silang.
- e. Jamur patogen yang digunakan untuk pengujian aktivitas antijamur adalah *A. niger*, *C. albicans*, *Tricophyton sp* dan *M. gypseum*.
- f. Metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan menghambat ekstrak aktif tertinggi dengan mencari KHM dan nilai banding antara ekstrak aktif antijamur tertinggi dengan standar mikonazol.

3. Rumusan Masalah

Berdasarkan batasan masalah tersebut, maka dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

- a. Apakah ekstrak metanol buah pare belut mempunyai aktivitas antijamur terhadap jamur *A. niger*, *C. albicans*, *Tricophyton sp* dan *M. gypseum* ?
- b. Golongan senyawa kimia apa sajakah yang terkandung dalam ekstrak aktif antijamur dari buah pare belut ?
- c. Pada ekstrak manakah yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi ?

- d. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak aktif yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi ?

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- a. Mengetahui aktivitas antijamur ekstrak metanol buah pare belut terhadap jamur *A. niger*, *C. albicans*, *Tricophyton sp* dan *M. gypseum*.
- b. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak buah pare belut yang aktif sebagai antijamur.
- c. Mengetahui ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi.
- d. Mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi.

Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

- a. Segi teoritis, bermanfaat bagi ilmu pengetahuan untuk mengembangkan analisis kualitatif golongan-golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak buah pare belut.
- b. Segi praktis, diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah bagi bidang farmasi dan kesehatan mengenai aktivitas antijamur dalam ekstrak buah pare belut beserta golongan-golongan senyawanya.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.)

Pare belut merupakan suatu jenis tanaman setahun yang dikenal pula dengan nama *Trichosanthes anguina* L. Jenis tanaman ini tersebar dari India sampai Australia. Di Indonesia pare belut digunakan sebagai sayuran (lembaga Biologi Nasional, LIPI, 1980). Pare belut sesuai ditanam di dataran rendah tropis yang lembab. Temperatur pertumbuhan optimum rata-rata 30-35⁰C. Penanaman biasanya dilakukan pada permulaan musim penghujan (Durrance Rd, 1999). Tanaman Pare belut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman pare belut (*Trichosanthes anguina* L.)

a. Klasifikasi Tanaman

Tanaman ini merupakan *Cucurbitaceae*. Menurut Tjitrosoepomo (1989), klasifikasi pare belut adalah sebagai berikut :

Kingdom: Plantae

Divisi: Spermatophyta

Subdivisi: Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo: Cucurbitales

Famili: Cucurbitaceae

Genus: *Trichosanthes*

Spesies: *Trichosanthes anguina* L. (Sinonim *T. Cucumerina* L.)

b. Deskripsi Tanaman

Pare belut merupakan tumbuhan tahunan yang tumbuh merambat dengan akar lekatnya yang panjang. Daunnya berselingan, berbentuk jorong atau segitiga. Bunganya berkelamin satu berwarna putih, bunga betina dan bunga jantan terdapat pada satu tanaman. Buah pare belut berbentuk bulat dengan panjang 30 – 110 cm dan berdiameter 4-8 cm. Kulit buahnya berwarna hijau tua, adakalanya bergaris keputihan dan halus. Rasa daging buahnya tidak pahit.

Perbanyakan dilakukan dengan biji yang langsung disebar di lapangan yang tanahnya cukup subur. Tidak memerlukan banyak pemeliharaan, kecuali diperlukan rambatan yang cukup tinggi, atau dirambatkan ke pohon, supaya buahnya tidak menyentuh tanah. Sementara buahnya tumbuh ujungnya diberati batu kecil supaya buahnya lurus, tidak menggeliat. Buahnya biasanya dihasilkan 3-4 bulan setelah biji disebar, dan dipetik kira-kira 1 bulan kemudian (Setiawan, 1995 dan Lembaga Biologi Nasional LIPI, 1980 dalam skripsi Dwik Kristinawati, 2004).

c. Manfaat dan kandungan Tanaman

Menurut Duke (2004), pare belut mempunyai manfaat sebagai purgative (pencabar, khususnya yang merangsang gerakan peristaltik usus), vermifuge (agen yang memaksa agar cacing atau parasit usus keluar), apertif (merangsang nafsu makan), hemaglutinat (penggumpal eritrosit), bilicus (rasa mual, rasa tidak enak perut, nyeri kepala yang disebabkan, sekresi empedu yang berlebihan, emetic (menimbulkan muntah), pengobatan penyakit sifilis, tumor.

Identifikasi dengan skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol pare belut mengandung alkaloid, tanin dan polifenol, saponin, kardenolin/bufadienol, dan flavonoid. Dan analisis spektra GC-MS menunjukkan senyawa-senyawa yang teridentifikasi adalah difenil sulfon, isopropil tridekanoat, di-n-oktil ftalat, stigmasterol, dan β -sitosterol. Senyawa stigmasterol dan β -sitosterol yang teridentifikasi berdasarkan kerangka dasar strukturnya diperkirakan merupakan senyawa golongan saponin yang ikatan glikosidanya lepas pada proses persiapan sampel dan Identifikasi (Kristinawati, 2004).

2. Jamur

Fardiaz (1992) mendefinisikan jamur merupakan suatu mikroorganisme eukariotik yang mempunyai ciri-ciri spesifik yaitu mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil, dapat berkembang biak secara seksual dan aseksual dan beberapa jamur mempunyai bagian-bagian tubuh berbentuk filamen-filamen dan sebagian lagi bersifat uniseluler. Beberapa jamur mempunyai inang yang hidup lalu tumbuh dengan subur sebagai parasit dan menimbulkan penyakit pada tumbuhan, hewan termasuk manusia, tidak kurang dari 100 spesies yang patogen terhadap manusia (Pelezar dan Chan, 1986). Menurut (Dwidjoseputro, 1978), jamur adalah tumbuhan yang berinti, berspora, tidak berklorofil, berupa sel atau benang bercabang-cabang dengan dinding dari selulosa atau dari kitin atau dari keduanya. Pada umumnya berkembang biak secara seksual dan aseksual.

Jamur merupakan organisme heterotrof yang memerlukan zat-zat organik dari organisme autotrof. Jamur tumbuh pada kondisi aerob dan memperoleh energi dengan mengoksidasi bahan organik. Unsur-unsur yang diperlukan jamur untuk pertumbuhannya antara lain nitrogen, hidrogen, oksigen, kalium, fosfor, sulfur, karbon, dan magnesium. Jamur pada umumnya tumbuh pada suhu 0-60⁰C dengan suhu optimal 20-30⁰C dan pH 2-9 dengan pH optimal 6 (Webster, 1980).

Menurut Alexopoulos jamur dibedakan menjadi empat kelas, yaitu :

- 1) Zygomycetes
- 2) Ascomycetes
- 3) Basidiomycetes
- 4) Dueteromycetes

(Tortera *et al.*, 1995; Harliana, 2006).

Jamur terdiri dari struktur somatik atau vegetatif yaitu thallus yang merupakan filamen atau benang hifa, miselium berupa jalinan hifa dan yang merupakan koloni disebut spora (Basri dkk, 2000). Sedangkan menurut (Dwidjoseputro, 1978) jamur terdiri dari kapang dan khamir. Kapang berbentuk filamentus sedangkan khamir bersifat uniseluler. Kapang atau cendawan secara

mikroskopis terdiri dari miselium berupa filamen atau kumpulan hifa yang kompleks. Hifa ada yang menegak dan ada yang mendatar. Biasanya hifa yang menegak menghasilkan alat-alat pembiak yang sering disebut spora.

Fungi dibedakan menjadi 2 golongan, yakni kapang dan khamir. Kapang merupakan fungi yang berfilamen atau mempunyai miselium, pertumbuhannya dalam bahan makanan mudah sekali dilihat, yakni seperti kapas (Waluyo, 2005). Sedangkan tubuh atau talus suatu kapang pada dasarnya terdiri dari dua bagian miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan beberapa filamen yang dinamakan hifa. Di sepanjang setiap hifa terdapat sitoplasma bersama (Pelezar dan Chan, 1986). Pertumbuhan fungi mula-mula berwarna putih, tetapi bila telah memproduksi spora akan membentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang. Kebanyakan kapang bersifat mesofilik, yaitu mampu tumbuh baik pada suhu kamar. Suhu optimum pertumbuhan untuk kebanyakan kapang adalah 25 sampai 30⁰ C, tetapi beberapa dapat tumbuh pada suhu 35 sampai 37⁰ C atau lebih, misal *Aspergillus*. Beberapa kapang bersifat psikotrofik, yakni dapat tumbuh baik pada suhu almari es, dan beberapa bahkan masih dapat tumbuh lambat pada suhu di bawah suhu pembekuan, misal -5 sampai -10⁰ C. Selain itu, beberapa kapang bersifat termofilik, yakni mampu tumbuh pada suhu tinggi. Semua kapang bersifat aerobik, yakni membutuhkan oksigen dalam pertumbuhannya. Kebanyakan kapang dapat tumbuh baik pada pH luas, yakni 2,0 sampai 8,5 tetapi biasanya pertumbuhannya akan baik bila pada kondisi asam atau pH rendah (Waluyo, 2005).

Khamir merupakan fungi bersel tunggal dan tidak berfilamen. Sebagai sel tunggal khamir tumbuh dan berkembang biak lebih cepat dibanding kapang yang tumbuh dengan pembentukan filamen. Reproduksi vegetatif terjadi dengan cara pertunasan. Khamir juga lebih efektif dalam memecah komponen kimia dibanding kapang, karena mempunyai perbandingan luas permukaan dengan volume yang lebih besar. Sel khamir mempunyai ukuran yang bervariasi, yaitu dengan panjang 12-5 mm sampai 20-50 mm, dan lebar 1-10 mm. Bentuk khamir bermacam-macam, yaitu bulat, oval, silinder, ogival yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung (trianguler), berbentuk botol,

bentuk apulkat atau lemon, membentuk pseudomiselium, dan sebagainya. Dinding selnya sangat tipis untuk sel-sel yang masih muda, dan semakin lama semakin tebal jika sel semakin tua. Komponen dinding selnya berupa glukukan (selulosa khamir), mannan, protein, kitin, dan lipid (Waluyo, 2005).

Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Candida albicans

Menurut (Ariani, dkk, 2004) klasifikasi *C. albicans* sebagai berikut :

Divisio: Eumycophyta

Kelas : Deuteromycetes

Ordo : Melaneoniales

Familia: Moniliaceae

Genus : *Candida*

Spesies: *Candida albicans*

C. albicans adalah jamur lonjong bertunas yang menghasilkan *pseudomiselium* dalam biakan, jaringan dan eksudat. Ukuran *C. albicans* yaitu 2-3 μm x 4-6 μm . *C. albicans* merupakan anggota flora normal selaput lendir, saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan genetalia wanita. *C. albicans* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, tromboflebitis, endokarditis atau infeksi pada mata dan organ lain. *C. albicans* mampu meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas, tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini bersama-sama dengan sifat koloni dan morfologi koloni, membedakan *C. albicans* dari spesies *Candida* lainnya (Jawetz, 1986). Jamur ini menyebabkan kandidiasis (Tjai dan Rahardja, 1978). Jamur ini mempunyai sedikit koloni namun penyebarannya merata, berwarna putih, dan penyebab kandidiasis. Kandidiasis dapat menjangkit selaput lendir, kuku, dan berbagai organ tubuh. Sering terjadi kandidiasis bibir dan lidah karena penggunaan protese (gigi palsu) yang tidak cocok, sehingga menimbulkan pengerasan gusi atau bibir (Anonim, 1989). Infeksi yang disebabkan oleh jamur *C. albicans* antara lain :

1) Mulut

Infeksi mulut (sariawan) terutama pada bayi, terjadi pada selaput lendir

pipi dan tampak sebagai bercak putih yang sebagian besar terdiri atas pseudomiselium dan epitel yang terkelupas.

2) Genitalia wanita

Vulvovaginitis menyerupai sariawan, tetapi menimbulkan iritasi dan gatal yang hebat. Timbulnya vulvovaginitis dipermudah oleh pH alkali. Dalam keadaan normal pH dinetralkan oleh kuman vagina.

3) Kulit

Infeksi kulit terutama terjadi ada bagian tubuh yang basah, hangat, seperti ketiak, lipatan paha, atau lipatan dibawah payudara, infeksi paling sering terdapat pada orang gemuk dan diabetes. Infeksi pada kulit antara jari-jari tangan paling sering setelah pencelupan dalam air yang berlangsung lama dan berulang.

4) Kuku

Rasa sakit, bengkak kemerahan dari lipatan kuku dapat mengakibatkan penebalan dan akhirnya kehilangan kuku.

5) Paru-paru dan organ-organ lain

Infeksi *Candida* dapat merupakan invasi sekunder paru-paru, ginjal, dan organ-organ lain di mana terdapat penyakit sebelumnya (misalnya tuberkulosis dan kanker) (Jawetz dkk, 1995).

b. *Aspergillus niger*

Klasifikasi jamur *A.niger* adalah sebagai berikut:

Divisio: Eumycophyta

Kelas : Ascomycetes

Ordo : Aspergillales

Familia: Aspergillaceae

Genus : *Aspergillus*

Spesies: *Aspergillus niger*

(Ariani,dkk, 2004)

A. niger atau *Black Aspergilli* merupakan jamur yang umum disebut sebagai jamur hitam. *A. niger* biasanya ditemukan dalam paru-paru burung, tetapi juga dapat ditemukan pada lembu, domba, dan kuda, namun jarang ditemukan

pada manusia. *A. niger* juga dapat menyebabkan infeksi yang serius pada telinga. Pada umumnya *A. niger* ditemukan pada makanan yang dibiarkan terbuka. *A. niger* menyebabkan pembusukan dan kontaminan umum pada laboratorium bakteri dan mikrobiologi (Alexopoulos, 1952). *A. niger* digunakan untuk memproduksi asam oksalat dan asam nitrat (Salle, 1974).

Jamur ini memiliki koloni seperti kapas, berwarna putih, penyebab aspergilosis (Basri, dkk, 2000).

c. *Trichophyton sp.*

Klasifikasi jamur adalah sebagai berikut :

Divisio : Eumycophyta

Kelas : Deuteromycetes

Ordo : Melaneoniales

Familia: Moniliaceae

Genus : *Trichophyton*

Spesies : *Trichophyton sp.*

(Ariani dkk, 2004)

Jamur ini memiliki koloni seperti kapas, berwarna putih, penyebab dermatomikosis (Sastrahidayat, 1990). Mikronidia merupakan bentuk spora yang paling banyak. Makrokonidia yang berdinding halus, berbentuk pensil dengan ujung-ujung yang tumpul biasanya jarang ditemukan. *Trichophyton sp.* menyebabkan infeksi pada kulit, kuku, dan rambut (Jawetz, et al; 1995).

d. *Microsporum gypseum*

Klasifikasi jamur *M. gypseum* adalah sebagai berikut :

Divisio : Eumycophyta

Kelas : Deuteromycetes

Ordo : Onygenales

Familia: Arthrodermataceae

Genus : *Microsporum*

Spesies : *Microsporum gypseum*

(<http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/andriwicaksana078114042.p>

df)

M. gypseum mempunyai banyak mikrokonidia yang terdiri atas 4 sampai 6 sel, berdinding lebih tipis dalam koloni yang berwarna kekuning-kuningan sampai kecoklat-coklatan (Jawetz *et al.*, 1995). Jamur ini menyebabkan dermatomikosis (Tjay dan Rahardja, 1978).

3. Antijamur

Antijamur merupakan zat berkhasiat yang digunakan untuk penanganan penyakit jamur. Umumnya suatu senyawa dikatakan sebagai zat antijamur apabila senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur (Siswandono, 1995).

Zat antijamur bekerja menurut salah satu dari berbagai cara, antara lain menyebabkan kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, atau penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Kerusakan pada salah satu situs ini dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju pada matinya sel tersebut (Pelezar dan Chan, 1988).

a. Kerusakan pada dinding sel

Dinding sel merupakan penutup lindung bagi sel lin juga berpartisipasi di dalam proses-proses fisiologi tertentu. Strukturnya dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah selesai terbentuk (Pelezar dan Chan, 1988).

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta secara selektif mengatur aliran keluar-masuknya zat antara sel dengan lingkungan luarnya. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Membran ini juga merupakan situs beberapa reaksi enzim. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelezar dan Chan, 1988).

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat pada membran alamiahnya. Suatu

kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) ireversibel (tak dapat balik) komponen-komponen seluler yang vital ini (Pelezar dan Chan, 1988).

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Pelezar dan Chan, 1988).

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelezar dan Chan, 1988).

4. Obat Antijamur Mikonazol dan Senyawa – senyawa metabolisme Sekunder yang Mempunyai Aktivitas Antijamur

a. Obat Antijamur Mikonazol

Mikonazol merupakan obat antijamur yang termasuk dalam turunan imidazol. Imidazol adalah antijamur spektrum luas, dengan aktivitas yang mencakup hampir semua fungi patogen untuk manusia. Senyawa imidazol mempunyai intensitas kerja yang tinggi dan timbulnya resistensi sedikit (Siswandono, 1995). Mikonazol terutama digunakan untuk infeksi kulit dan kuku. Efek sampingnya dapat berupa iritasi, reaksi alergi, dan rasa terbakar pada kulit (Tjay dan Rahardjo, 1978).

Mekanisme kerja obat ini belum diketahui sepenuhnya. Mikonazol dapat menghambat sintesis ergosterol yang menyebabkan permeabilitas

membran sel jamur meningkat. Selain itu, mikonazol menyebabkan gangguan sintesis asam nukleat atau penimbunan peroksida dalam sel jamur yang akan menimbulkan kerusakan sel jamur tersebut (Jewetz et al, 1995).

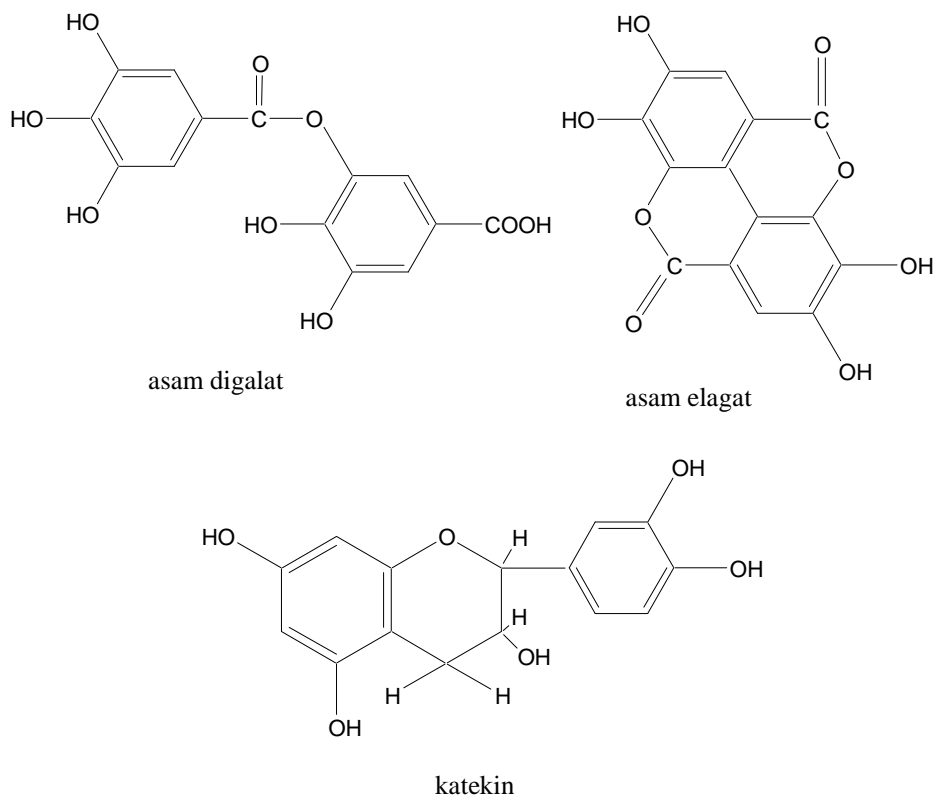
b. Senyawa – senyawa Metabolisme Sekunder yang Mempunyai Aktivitas Antijamur

1) Tanin

Tanin merupakan penggambaran secara umum untuk golongan polimer fenolik (Cowan, 1999). Tanin merupakan bahan yang dapat merubah kulit mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silangkan protein (Harborne, J. B., 1996) dan mengendapkan gelatin dalam larutan (Cowan, 1999). Berat molekulnya antara 500 sampai 28000 dan ditemukan pada bagian tanaman kuncup, batang, daun, buah dan akar (Cowan, 1999).

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Di dalam tumbuhan, letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma (Padmawinata dan Soediro, 1996). Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau tanin katekin lebih penting dari segi penyamakan (Padmawinata, 1995). Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (atau galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi (Padmawinata dan Soediro, 1996).

Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam larutan asam klorida encer. Bagian alkohol dari ester ini biasanya gula, dan seringkali glukosa. Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas) membentuk koloid (Padmawinata dan Soediro, 1996). Beberapa contoh struktur senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa tanin

(Padmawinata, 1995)

2) Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam (Kristanti, 2008). Dalam tumbuhan flavonoid pada umumnya merupakan pigmen-pigmen yang tersebar luas dalam bentuk senyawa glikon dan aglikon. Flavonoid-flavonoid yang terdapat di alam antara lain adalah flavon, isoflavon, antosianin, leuko-antosianin, dan kalkon (Rusdi, 1988).

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, serta sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus, dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungi penyerangnya. Telah banyak flavonoid yang

diketahui memberikan efek fisiologi tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional (Kristanti, 2008).

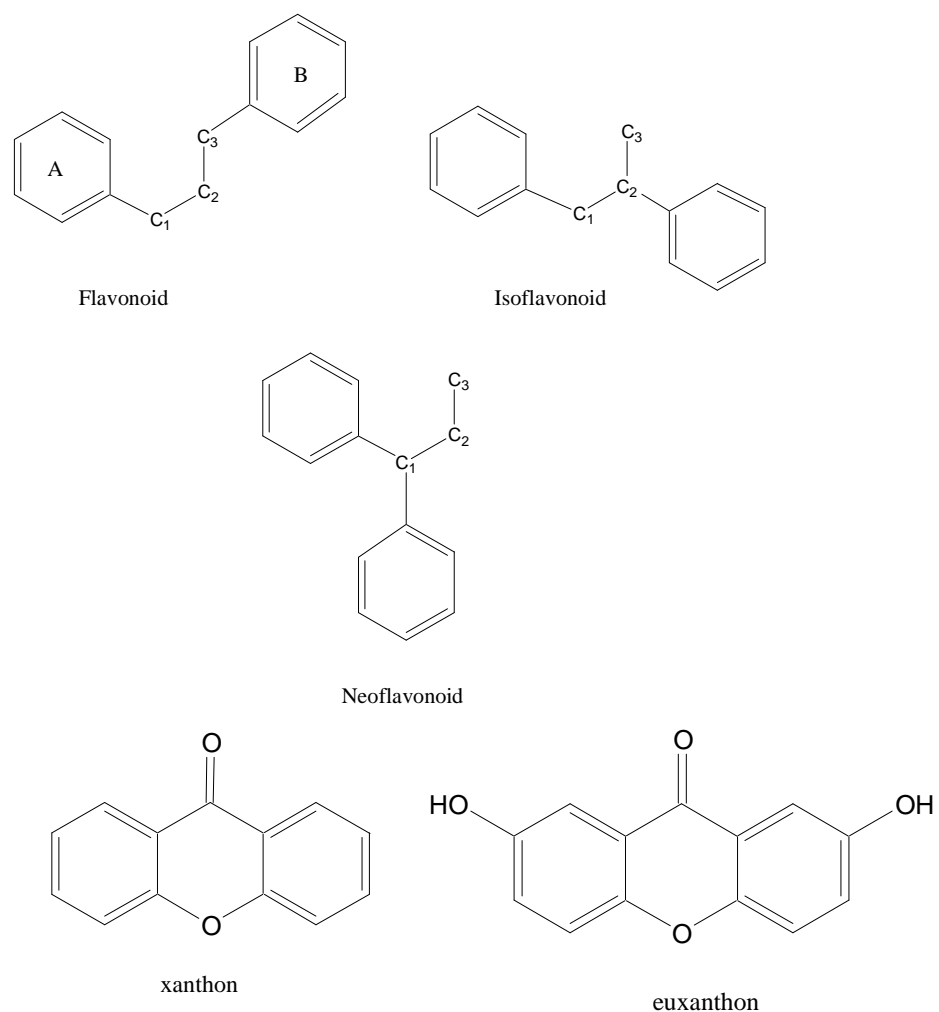
Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter. Sebagai glikosida maupun aglikon, senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan, glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Rusdi, 1988)

Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon dan digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ yang dihubungkan dengan rantai alifatik tiga-karbon. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropan atau neoflavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavon, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid.

Salah satu kelas yang banyak tersebar dari senyawa fenolat adalah flavonoid. Golongan senyawa ini memberikan warna pada buah dan bunga dan flavonoid telah banyak dikarakterisasi dan digolongkan berdasarkan struktur kimianya (Bylka, Matlawaska dan Pilewski, 2004). Flavonoid adalah senyawa fenolat terhidroksilasi (Cowan, 1999) dan merupakan senyawa C₆-C₃-C₆ dimana C₆ diganti dengan cincin benzene dan C₃ adalah rantai alifatik yang terdiri dari cincin piran. Flavonoid dibagi menjadi 7 tipe yaitu flavon, flavonol, flavanon, khalkon, xanton, isoflavon, dan biflavon (Bylka, *et al.* 2004). Contoh senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antijamur antara lain xanthon dan euxanthon yang diisolasi dari kulit buah *Garcinia manganostrana* terhadap jamur *Fusarium oxysporum vasinfectum*, *Altenaria tenuis*, dan *Dreschiera oryzae*. Xanthon alami mempunyai aktivitas penghambatan yang baik terhadap ketiga jamur tersebut (Gopalakrishnan, Banumathi, and Suresh, 1997). Contoh struktur golongan senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.

Banyak tanaman obat yang mengandung komponen flavonoid yang digunakan untuk terapi penyakit sirkulasi, mengurangi tekanan darah, dan anti alergi. Efek farmakologi dari flavonoid yang berhubungan dengan kemampuan

flavonoid untuk bekerja sebagai anti oksidan yang kuat penangkap radikal bebas, membentuk khelat dengan logam dan berinteraksi dengan enzim (Bylka *et.al* 2004). Flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba, jadi secara in vitro flavonoid efektif sebagai substansi antijamur antimikroba yang membunuh banyak mikroorganisme. Kemungkinan aktivitasnya dikarenakan kemampuan flavonoid membentuk ikatan dengan protein terlarut dan dinding sel bakteri, semakin lipofilik suatu flavonoid semakin merusak membran mikroba (Cowan, 1999).



Gambar 3. Senyawa – senyawa golongan flavonoid (Achmad, 1986)

3) Terpenoid

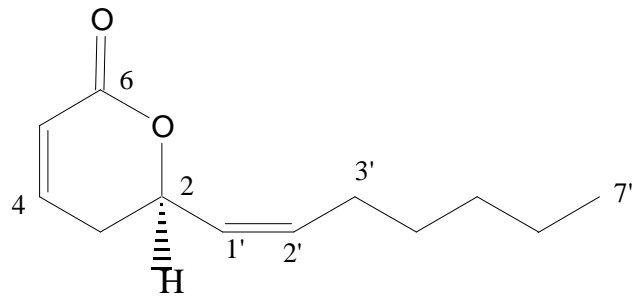
Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid

ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut, dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester, dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri.

Terpenoid adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatis. Terpenoid merupakan senyawa – senyawa yang mudah menguap terdiri dari 10 atom C dan penyusun minyak atsiri (Achmad, 1986). Terpenoid dengan titik didih yang lebih tinggi disusun oleh diterpen (C_{20}), tripterten (C_{30}), dan tetraterpen (C_{40}) dengan penambahan atom oksigen (Achmad, 1986 dan Cowan, 1999).

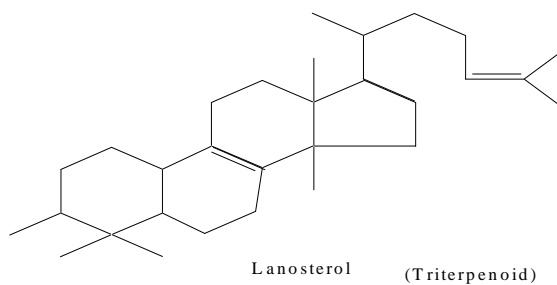
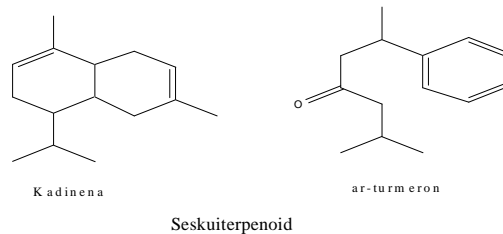
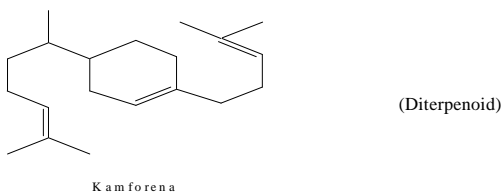
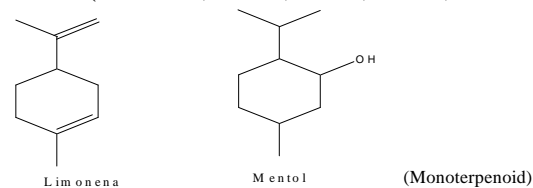
Senyawa terpenoid tersusun atas karbon-karbon dengan jumlah kelipatan atom lima. Diketahui juga bahwa sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C_5 yang disebut unit isoprene (Kristanti, 2008). Senyawa terpenoid terdiri atas beberapa unit isoprene, mempunyai struktur siklik dengan satu atau lebih gugus fungsional berupa gugus hidroksil dan gugus karbonil (Rusdi, 1988).

Secara kimia terpenoid larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan memakai eter atau kloroform, dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silika gel atau alumina menggunakan pelarut eter atau kloroform (Harborne, 1996). Kebanyakan peneliti berpendapat bahwa fungsi terpenoid rendah dalam tumbuhan, lebih bersifat ekologi daripada fisiologi. Banyak senyawa ini yang menghambat pertumbuhan tumbuhan pesaingnya dan dapat bekerja sebagai insektisida atau berdaya racun terhadap hewan tinggi (Robinson, 1995). Contoh senyawa yang termasuk terpenoid dapat dilihat pada Gambar 4. Salah satu senyawa terpenoid yang mempunyai aktivitas antijamur adalah (R)-6-[(Z)-1-heptenil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-one yang diisolasi dari *Hyptis ovalifolia* Benth. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antijamur secara *in vitro* terhadap *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton mentagrophytes*, dan *Tricophyton rubrum*.



(R)-6-[(Z)-1-heptenyl]-5,6-dihidro-2H-piran-2-one

(Oliviera, Silva, Kato, Silva, Ferreira, *and* Souza, 2004)



Gambar 4. Struktur beberapa terpenoid (Padmawinata, 1995)

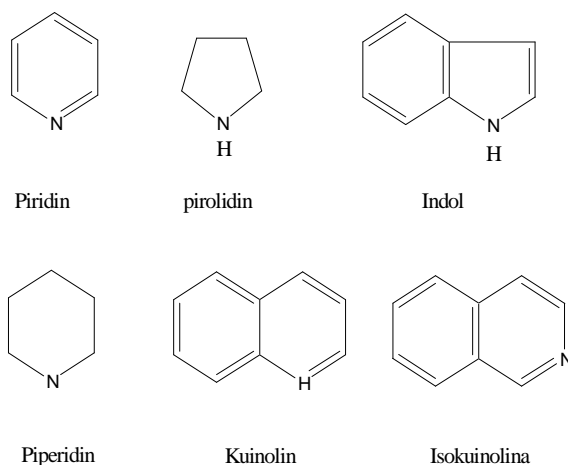
4) Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan

tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan, tetapi sering kali kadar alkaloid kurang dari 1% (Kristanti dkk, 2008).

Alkaloid dari tanaman kebanyakan amina tersier dan lainnya terdiri dari nitrogen primer, sekunder dan quarterner (Poither, 2000). Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan cincin aromatis (Achmad, 1986). Berdasarkan penyusun asam aminonya alkaloid dibedakan menjadi alkaloid asiklis yang berasal dari asam amino ornitin dan lisin. Alkaloid aromatis jenis fenilalanin berasal dari fenilalanin, tirosin dan 3,4 – dihidroksifenilalanin. Alkaloid jenis indol yang berasal dari triptofan (Achmad, 1986).

Senyawa alkaloid diklasifikasikan menurut jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul. Menurut klasifikasi ini, alkaloid dapat dibedakan atas beberapa jenis, seperti alkaloid piridin, pirolidin, indol, piperidin, kuinolin, dan isokuinolin (Kristanti dkk, 2008). Struktur dari senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur beberapa alkaloid

Sekitar 5.500 jenis alkaloid telah diketahui, merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara

luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal dan hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Harborne, 1996).

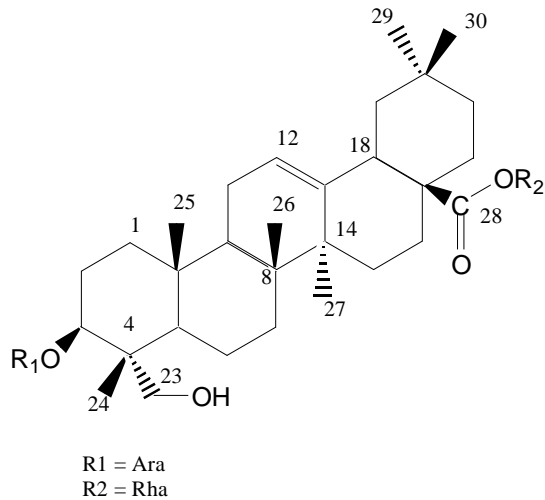
5) Saponin

Pembentukan busa yang lama pada waktu ekstraksi atau ekstrak tanaman yang pekat menunjukkan adanya saponin (J. Poither, 2000). Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpen dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh satu gugus-OH biasanya C₃-OH dari aglikon (*monodesmoside saponin*) dan jarang dengan dua gugus OH atau satu gugus OH dan gugus karboksil (*bis-desmoside saponin*) (Wagner, 1984).

Awalnya diberi nama saponin, karena sifatnya yang menyerupai sabun (bahasa Latin *sapo* berarti sabun). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa, jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba juga (Robinson, 1995). Contoh senyawa saponin yang dapat bertindak sebagai antijamur antara lain 3-O- α -L-arabinopiranosil hederagenin 28-O- α -L-rhamnopiranosil ester. Dikenal ada dua jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Contoh senyawa yang termasuk saponin antara lain asam glisiretat dan soyasapogenol A. Adapun strukturnya dapat dilihat pada Gambar 6.

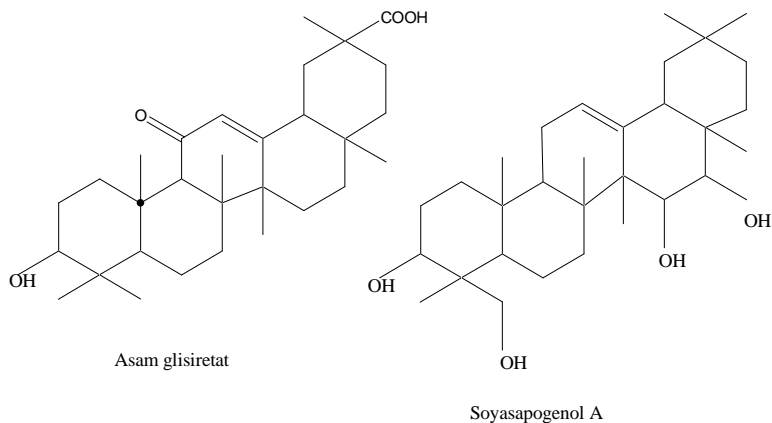
Saponin mempunyai efek membranolitik yaitu membentuk kompleks dengan kolesterol di membran sel protozoa (P.R. Cheeke, 2000). Saponin mempunyai efek antibakteri dan antijamur yang bagus. Efek antijamur dan antibakteri terganggu dengan adanya gugus monosakarida dan turunannya. Saponin dapat berfungsi sebagai detergen. Detergen memiliki struktur yang dapat berikatan dengan molekul hidrofilik dan molekul - molekul organik non polar (lipofilik) sehingga mampu merusak membran sitoplasma dan membunuh bakteri

(Cheeke, 2000).



Struktur 3-O- α -L-arabinopiranosil hederagenin 28-O- α -L-rhamnopiranosil ester

(Du, Zhu, and Shen, 2003)



Gambar 6. Struktur beberapa saponin

(Padmawinata, 1995)

Saponin mempunyai bagian utama yang berupa turunan triterpen sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh satu gugus –OH, biasanya C3-OH dari aglikon (monodesmoside saponin) dan jarang dengan dua gugus OH atau satu gugus OH dan gugus karboksil (bis-desimside saponin) (wagner, 1983)

6) Fenol Sederhana atau Senyawa Fenolat

Beberapa senyawa tumbuhan yang aktif terdiri dari sebuah cincin fenol tersubstitusi. Asam sinamat dan asam kafeat biasanya mewakili kelompok besar dari turunan senyawa fenilpropan yang mempunyai tingkat oksidasi tinggi. Tumbuhan Terragon dan Thyme keduanya mengandung asam kafeat yang efektif membunuh virus, bakteri dan jamur. Catechol dan pyrogallol keduanya merupakan fenol teroksidasi menunjukkan racun terhadap mikroorganisme. Cathecol mempunyai 2 gugus fungsi $-OH$ dan Pyragallol mempunyai 3 gugus fungsi $-OH$. Tingkatan dan banyaknya gugus fungsi hidroksil pada golongan fenol berhubungan dengan toksisitas pada mikroorganisme, dengan bukti bahwa bertambahnya hidroksilasi menghasilkan penambahan toksisitas. Semakin tinggi fenol teroksidasi semakin kuat menghambat pertumbuhan organisme. Mekanisme yang berhubungan dengan toksisitas fenol terhadap mikroorganisme adalah penghambatan enzim oleh senyawa teroksidasi kemungkinan lewat reaksi dengan gugus sulfhidril atau dengan interaksi yang tidak spesifik oleh protein (Cowan, 1999).

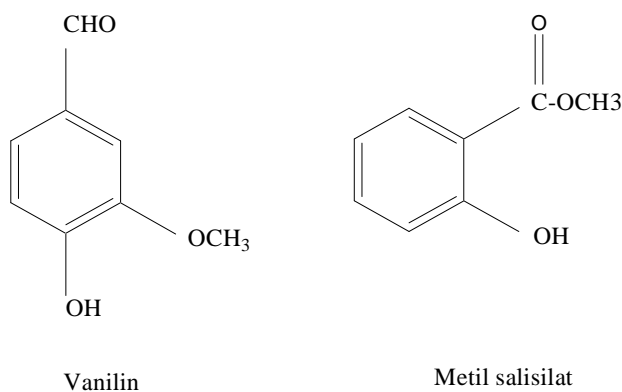
Senyawa-senyawa fenol yang terdapat dalam tumbuhan merupakan senyawa monohidroksi atau polihidroksi fenolik. Terikat sebagai senyawa glikosida, terikat dengan protein atau dengan alkaloida ataupun terdapat sebagai senyawa terpenoida. Senyawa ini pada proses ekstraksi akan dapat ditemukan dalam fraksi air ataupun dalam fraksi pelarut-pelarut polar lainnya.

Jika murni, fenol sederhana berupa zat padat tak berwarna. Tetapi, biasanya teroksidasi dan berwarna gelap jika terkena udara. Kelarutan dalam air bertambah jika gugus hidroksil makin banyak, tetapi kelarutan dalam pelarut organik yang polar umumnya tinggi. Fenol yang kelarutannya dalam air kecil, mudah larut dalam larutan natrium hidroksida encer dalam air, akan tetapi dalam suasana basa laju oksidasinya sangat meningkat, sehingga pada setiap perlakuan kita harus menghindari penggunaan basa kuat (Robinson, 1995).

Aktivitas fisiologis senyawa fenolik tumbuhan banyak dan beragam. Ada senyawa fenol yang menghambat dan memacu pertumbuhan dan perkecambahan biji, dan proses transport membran. Pada beberapa tumbuhan lain senyawa ini dibentuk sebagai tanggapan terhadap infeksi oleh fungus. Beberapa tumbuhan

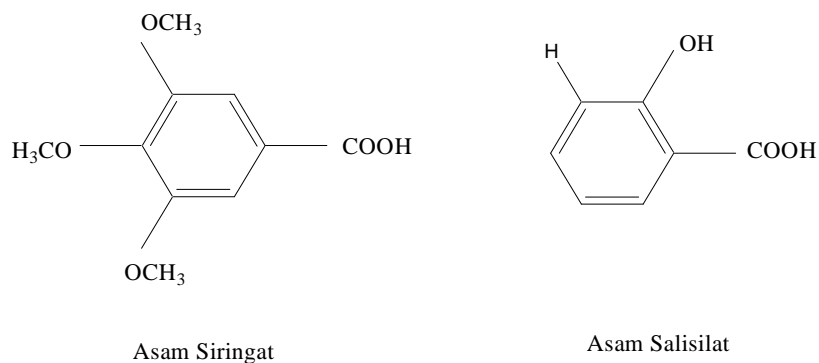
tampak menjadi tahan terhadap serangan fungus, karena senyawa fenol yang dikandungnya. Tetapi, ketahanannya itu mungkin bersifat khas terhadap jenis fungus tertentu. Beberapa senyawa fenolik bersifat menolak racun terhadap hewan pemangsa tumbuhan, misalnya serangga. Sementara senyawa fenol lain mempengaruhi perkembangbiakan binatang mengerat. Senyawa fenolik juga memiliki aktivitas antiinflamasi, karena senyawa ini menghambat sintesis prostaglandin. Kavain dan kandungan kimia lainnya yang berkaitan dalam akar kava-kava (*piper methysticum*) menjadi penyebab mengapa tumbuhan ini mempunyai efek sensitif dan memabukkan (Robinson, 1995). Contoh senyawa yang termasuk fenol dapat dilihat pada Gambar 7.

Asam fenolat yang tidak larut dalam air dapat dibedakan dari senyawa fenol lain yang tidak larut dalam air berdasarkan kenyataan bahwa asam fenolat dapat larut dalam larutan natrium bikarbonat, sementara senyawa fenol yang keasamannya lebih rendah memerlukan pelarut yang lebih basa (Robinson, 1995). Senyawa asam fenolat ada hubungannya dengan lignin terikat sebagai ester atau terdapat pada daun di dalam fraksi yang tidak larut dalam etanol. Mungkin juga terdapat fraksi yang larut dalam etanol, yaitu sebagai glikosida sederhana (Harborne, 1996) contoh yang termasuk asam fenolat dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 7. Struktur beberapa fenol

(Padmawinata, 1995)



Gambar 8. Struktur beberapa fenolat

(Harborne, 1996)

5. Metode Pengujian Aktivitas Antijamur

Prinsip umum dalam menentukan aktivitas antijamur adalah dengan melihat adanya hambatan pertumbuhan jamur. Zat antijamur dapat diperoleh dari hasil fermentasi, sintetik, dan dari/hasil isolasi tanaman. Metode untuk pengujian antijamur adalah metode difusi agar. Metode ini dibagi menjadi tiga yaitu metode lubang, metode gores silang dan metode cakram kertas.

a. Metode Lubang/Perforasi

Jamur uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi jamur dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6 mm kemudian dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antijamur dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi (Anonim, 1993).

b. Metode Gores Silang

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam kertas saring dengan cara meneteskan pada kertas saring kosong larutan antijamur sejumlah volume tertentu dengan kadar tertentu. Kertas saring tersebut diletakkan di atas permukaan agar padat, kemudian digores dengan suspensi jamur 90% pada agar melalui kertas saringnya, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antijamur dapat dilihat dari daerah bening yang tidak ditumbuhi jamur dekat kertas saring (Anonim, 1993).

c. Metode Cakram Kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antijamur sejumlah volume tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan di atas permukaan agar padat yang telah dituangkan jamur sebelumnya. Cawan petri diinkubasi pada suhu 30°C selama 2 sampai 4 hari. Aktivitas antijamur dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas.

6. Ekstraksi Maserasi dan Ekstraksi Bertahap

Penapisan awal untuk tanaman yang mempunyai aktivitas antimikroba didahului ekstraksi menggunakan akuades atau alkohol dan dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan berbagai pelarut organik (Cowan, 1999). Maserasi adalah metode ekstraksi padat cair – cair yang dilakukan dengan jalan membiarkan padatan/simplisia terendam dalam suatu pelarut (Kristanti, dkk, 2008). Prinsip ekstraksi maserasi yaitu mengekstrak zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar terlindung dari cahaya (Kristanti dkk, 2008). Pelarut yang digunakan biasanya pelarut polar yang mudah menguap. Setelah diperoleh larutan hasil ekstraksi, untuk memperoleh ekstrak biasanya dilakukan penguapan dengan penguap vakum putar. Ekstraksi dapat dilanjutkan dengan ekstraksi cair – cair menggunakan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya untuk memisahkan senyawa yang terdapat pada ekstrak kasar pertama dan larutan hasil ekstraksi diuapkan lagi untuk mendapatkan ekstrak – ekstrak hasil ekstraksi bertahap. Metode pengisolasian senyawa ini telah dilakukan pada penelitian Swantara (2005).

Salah satu keuntungan metode maserasi adalah cepat, terutama jika maserasi dilakukan pada suhu didih pelarut. Meskipun demikian, metode ini tidak selalu efektif dan efisien. Waktu perendaman bahan dalam pelarut bervariasi antara 15-30 menit tetapi kadang-kadang bisa sampai 24 jam. Jumlah pelarut yang diperlukan juga cukup besar, berkisar 10-20 kali jumlah sampel (Kristanti dkk, 2008). Pada maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk

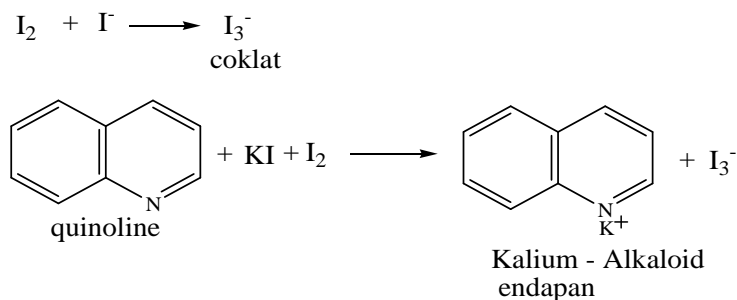
meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Hargono dkk, 1986).

7. Penapisan Fitokimia

Fitokimia atau kimia tumbuhan merupakan disiplin ilmu mempelajari aneka ragam senyawa organik pada tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, metabolismenya, penyebarannya secara ilmiah dan fungsi biologinya. Pendekatannya secara penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan kimia dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga dan biji). Terutama kandungan metabolit sekunder yang bioaktif yaitu alkaloid, antrakinon, flavonoid, glikosa jantung, kumarin, saponin (steroid dan triterpenoid), tanin, polifenol, minyak atsiri. Adapun tujuan utama dari penapisan fitokimia adalah menganalisis tumbuhan untuk mengetahui kandungan bioaktif atau kandungan yang berguna untuk pengobatan (Pedrosa, 1978).

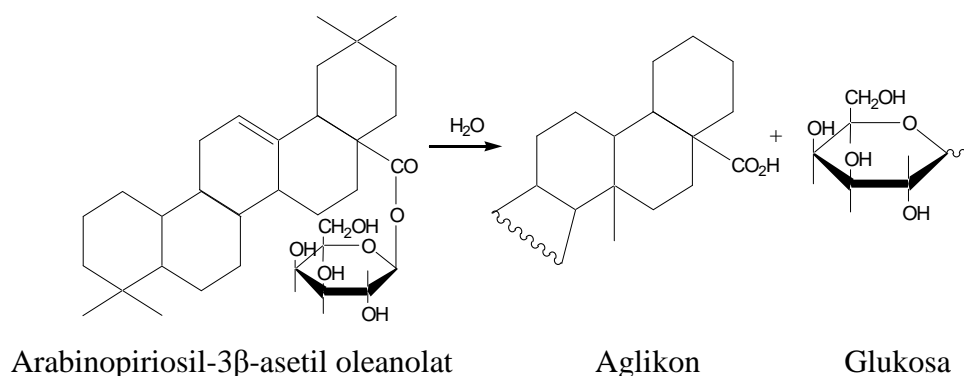
Metode yang digunakan untuk melakukan penapisan fitokimia harus memenuhi beberapa persyaratan antara lain, sederhana, cepat dan dapat dilakukan dengan peralatan minimal, selektif terhadap golongan senyawa yang dipelajari, semikualitatif dan dapat memberikan keterangan tambahan ada atau tidaknya senyawa tertentu dari golongan senyawa yang dipelajari (Pedrosa, 1978). Uji penapisan fitokimia biasanya menggunakan pereaksi antara lain alkaloid menggunakan pereaksi Wagner. Tanin menggunakan larutan gelatin dan FeCl_3 . Flavonoid dengan penambahan dengan HCl dan saponin dengan penambahan air.

Hasil positif uji alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan. Endapan tersebut diperkirakan adalah kalium – alkaloid. Pada pembuatan pereaksi wagner, iodine bereaksi dengan I dari kalium iodida menghasilkan ion I_3 yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium – alkaloid yang mengendap (Marliana dkk, 2005). Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Wagner ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Perkiraan reaksi uji wagner (Marliana, dkk, 2005)

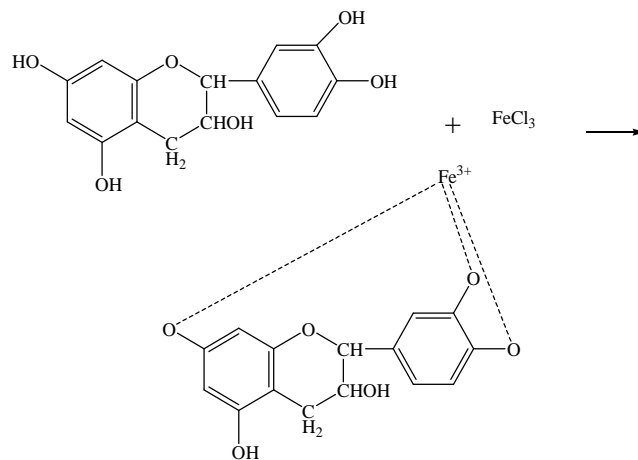
Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Senyawa glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikon (Rusdi, 1990 dalam Marliana, dkk, 2005). Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji saponin ditunjukkan pada Gambar 10.



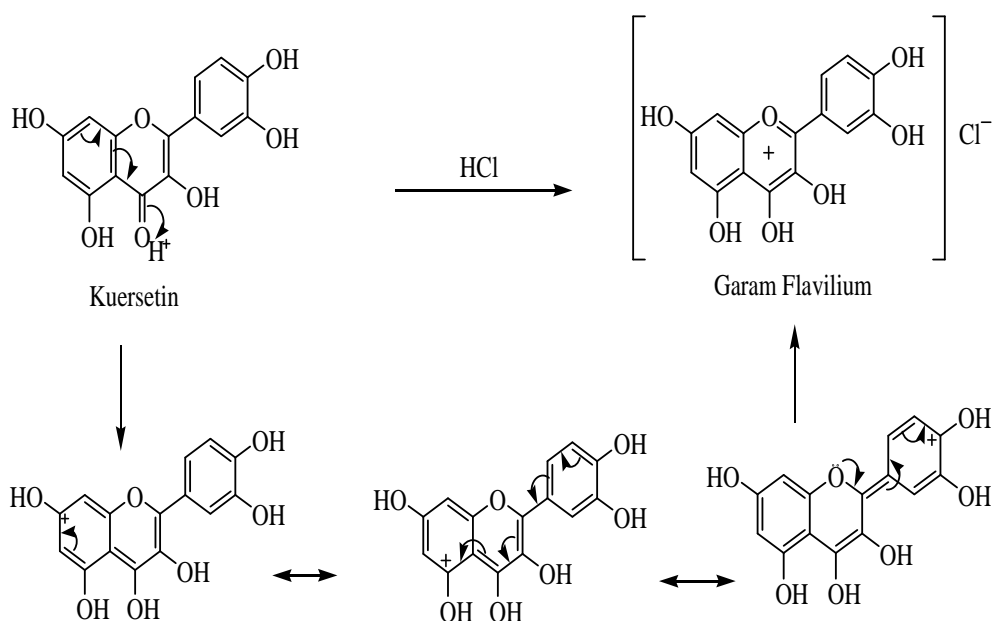
Gambar 10. Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana, dkk., 2005)

Tanin terdeteksi dalam ekstrak karena kemampuan ion Fe^{3+} dari reagen membentuk kompleks dengan senyawa tanin. Kompleks terbentuk karena ikatan kovalen antara ion Fe^{3+} dengan atom O⁻ dari gugus fungsi OH senyawa tanin yang melepaskan atom H. Reaksi dapat dilihat pada Gambar 11.

Uji flavonoid digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mempunyai inti benzopiranon. Warna merah atau ungu yang terbentuk merupakan garam benzopirilum, yang disebut juga garam flavilium (Achmad, 1986). Reaksi yang terjadi pada uji flavonoid ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 11. Perkiraan reaksi uji tanin dengan FeCl_3 (Kristinawati, 2004)



Gambar 12. Reaksi uji flavonoid (Achmad, 1986)

8. Uji Penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis Bahan

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan pemisahan komponen kimia yang sering digunakan dalam kimia organik bahan alam. Fenomena yang terjadi pada KLT adalah berdasar prinsip adsorpsi. Setelah sampel ditotolkan di atas fase diam, senyawa-senyawa dalam sampel akan terelusi dengan kecepatan yang sangat bergantung pada sifat senyawa-senyawa tersebut (kemampuan terikat pada

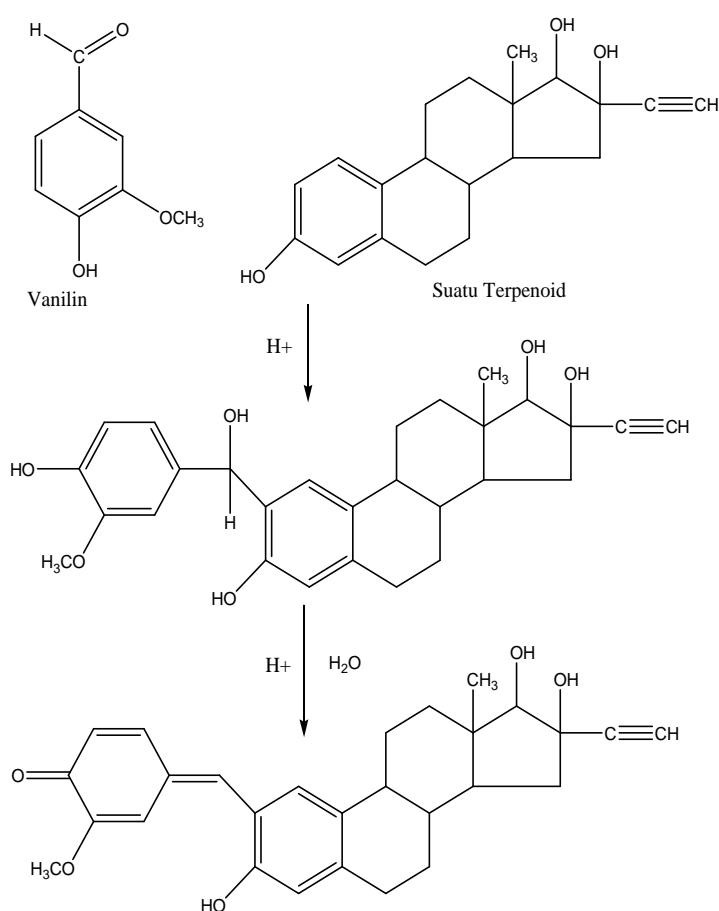
fase diam dan kemampuan larut dalam fase gerak), sifat fasa diam (kekuatan elektrostatis yang menarik senyawa di atas fasa diam), dan sifat fasa gerak (kemampuan melarutkan senyawa). Pada KLT, secara umum senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran rendah akan terelusi lebih cepat daripada senyawa-senyawa polar (Kristanti dkk, 2008). KLT merupakan metode pilihan untuk pemisahan semua kandungan yang larut dalam lipid, yaitu lipid, steroid, karotenoid, kuinon sederhana, dan klorofil (Harborne, 1996).

Proses KLT mudah dan cepat, sehingga banyak digunakan untuk melihat kemurnian suatu senyawa organik. Jika analisis dilakukan dengan mengubah pelarut beberapa kali dan hasil elusi tetap menampilkan satu noda maka dapat dikatakan bahwa sampel yang ditotolkan adalah murni. Selain itu KLT juga dapat menampakkan jumlah senyawa-senyawa dalam campuran sampel menurut noda yang muncul (Kristanti, dkk, 2008). Demikian kuatnya fasa diam melekat pada plat sehingga memungkinkan pengembangan plat berulang-ulang dengan pengembang yang sama atau beberapa pengembang yang berbeda, dengan mengeringkan plat sebelum pengembangan berikutnya (Harborne, 1996).

Fase diam yang digunakan dalam KLT berupa zat padat silika atau alumina yang mempunyai kemampuan mengabsorpsi bahan – bahan yang akan dipisahkan (sebagai absorben) (Kristanti, dkk, 2008). Fase gerak yang dipakai adalah pelarut tunggal atau campuran pelarut dengan perbandingan tertentu. Pemisahan yang bagus dapat dicari dengan mencoba – coba mengelusi dengan berbagai perbandingan campuran pelarut. Seperti yang dilakukan pada penelitian Hayani (2007) menggunakan berbagai perbandingan pelarut untuk memisahkan komponen yang terdapat pada rimpang temu kunci dan didapatkan perbandingan campuran pelarut heksana : etil asetat 8,5 : 1,5 yang memberikan pemisahan yang cukup bagus ditandai dengan banyaknya noda yang dipisahkan. Pendeteksian noda dapat dilakukan dengan pengamatan langsung, dibawah sinar UV dan disemprot dengan reagen spesifik. Reagen spesifik yang dipakai antara lain pada uji flavonoid menggunakan penyemprot AlCl_3 1%, uji fenolat dan tanin menggunakan penyemprot FeCl_3 1%, saponin menggunakan penyemprot SbCl_3 20% dalam kloroform, uji terpenoid menggunakan penyemprot vanillin H_2SO_4

dan uji KLT golongan senyawa alkaloid menggunakan reagen Dragendorff akan berwarna coklat kemerahan dibawah sinar tampak (Wagner, 1983).

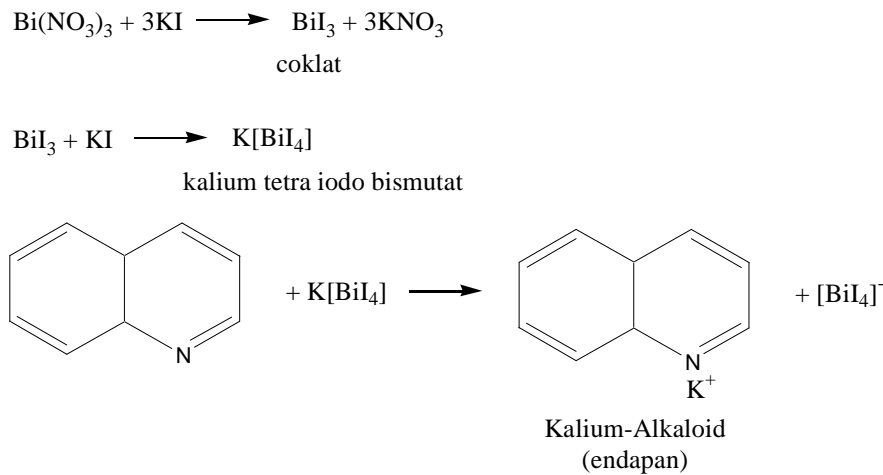
Uji KLT tanin dan fenolat menggunakan penyempnot FeCl_3 1%. Tanin dan fenolat akan berwarna hijau, merah ungu, biru, dan hitam (Padmawinata dan Soediro, 1996). Uji KLT terpenoid menggunakan penyempnot vanillin- H_2SO_4 menghasilkan bercak berwarna ungu, biru, biru-ungu, orange ke merah ungu, dan merah coklat (Wagner, 1983). Reaksi uji terpenoid ditunjukkan pada Gambar 13.



Gambar 13. Reaksi uji terpenoid dengan vanillin – H_2SO_4
(Jork, Funk, Fischer, and Wimmer, 1990)

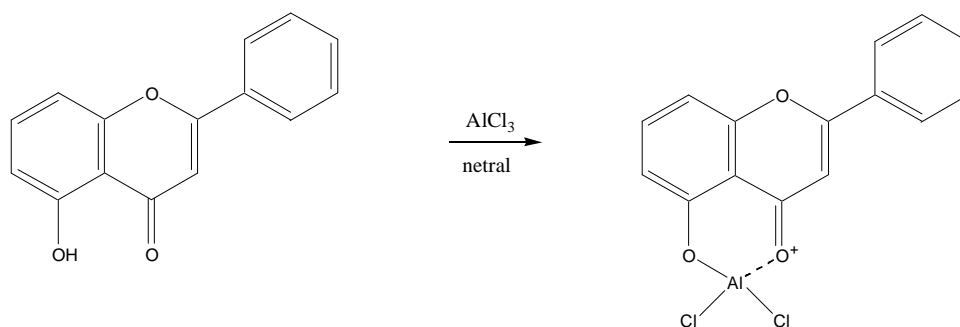
Uji KLT golongan senyawa alkaloid menggunakan reagen Dragendorff akan berwarna coklat kemerahan dibawah sinar tampak (Wagner, 1983). Reaksi

yang terjadi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 14.



Gambar 14. Reaksi uji Dragendorff (Marliana, dkk; 2005)

Uji KLT flavonoid menggunakan penyemprot AlCl_3 1% berwarna coklat muda pada sinar tampak dan biru pada UV 365 nm (Wagner, 1983). Flavonoid setelah disemprot dengan AlCl_3 dapat memberikan warna kuning berfluoresensi pada sinar UV 254 nm (Padmawinata dan Soediro, 1996; Kristanti, dkk; 2008) dan kuning pada sinar tampak (Wagner, 1983) Reaksi uji flavonoid dengan AlCl_3 ditunjukkan pada Gambar 15.



Gambar 15. Reaksi uji KLT flavonoid dengan AlCl_3 (Jork, *et al*; 1990)

9. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Beberapa bahan antimikrobia tidak membunuh tetapi hanya

menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antimicrobial bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Berdasarkan ini perlu diketahui KHM (Konsentrasi Hambatan Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) bahan antimicrobial terhadap mikroorganisme. KHM didefinisikan sebagai konsentrasi terendah bahan antimicrobial yang menghambat pertumbuhan, sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah bahan antimicrobial yang mematikan (Lay, 1994). Perbedaan antara KHM dan KBM adalah cara kerjanya, yaitu pada penentuan KBM pada uji tidak menggunakan media perbenihan sehingga jamur tidak diberi nutrisi untuk tumbuh sehingga yang dibunuh adalah jamur yang tidak mengalami pertumbuhan dan pada uji KHM uji menggunakan media perbenihan yang mengandung nutrisi untuk pertumbuhan jamur (Shanab, Adwan, Jarrar, Hiljleh, and Adwan; 2006).

B. Kerangka Pemikiran

Buah pare belut merupakan salah satu tumbuhan suku *cucurbitaceae* yang mempunyai kandungan senyawa-senyawa alkaloid, tanin dan polifenol, saponin, flavonoid dan kardendin/bufadienol (Kristinawati, 2004). Flavonoid, saponin dan alkaloid merupakan golongan senyawa yang berpotensi sebagai antijamur (Harliana, 2006). Isolasi komponen kimia yang terkandung dalam buah pare belut dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Penggunaan pelarut metanol karena dapat mengambil semua komponen baik yang bersifat polar maupun non polar sehingga diharapkan senyawa-senyawa yang bersifat antijamur dapat terekstrak semua di dalam metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh diuji aktivitas antijamurnya terhadap jamur *C. albicans*, *A. niger*, *M. gypseum*, dan *Tricophyton sp*, dan kemudian dilakukan penapisan fitokimia. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya golongan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antijamur dalam ekstrak buah pare belut.

Ekstraksi bertahap dilanjutkan terhadap ekstrak metanol menggunakan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya, yaitu heksana, kloroform, etil asetat dan butanol. Ekstraksi dengan variasi pelarut difungsikan untuk mengetahui

dalam ekstrak manakah dari buah pare belut yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi. Ekstrak heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol yang telah diperoleh kemudian dilakukan pengujian aktivitas antijamur.

Ekstrak aktif yang memiliki aktivitas antijamur kemudian dilakukan penapisan fitokimia terhadap golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolat, flavonoid, dan terpenoid. Ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi kemudian dilakukan analisa kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT), uji konsentrasi hambatan minimum (KHM), dan uji banding terhadap obat antijamur mikonazol (yang sebelumnya mikonazol dicari konsentrasi hambat minimumnya).

C. Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran, dapat diambil hipotesis :

Ekstrak metanol pare belut mempunyai aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*, *A. niger*, *Tricophyton sp* dan *M. gypseum*. Ekstrak aktif antijamur yang mempunyai aktivitas tertinggi pada pare belut mengandung golongan senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan saponin yang berpotensi sebagai antijamur. Metode difusi agar (perforasi) dapat menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak aktif yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dalam laboratorium dengan tahapan kerja sebagai berikut :

1. Preparasi sampel dengan determinasi
2. Ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol
3. Pengujian aktivitas antijamur ekstrak metanol
4. Ekstraksi bertingkat ekstrak metanol dengan menggunakan pelarut organik dengan tingkat kepolaran yang semakin meningkat, yaitu heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol.
5. Pengujian aktivitas antijamur ekstrak – ekstrak hasil ekstraksi bertingkat
6. Pengujian golongan senyawa yang bersifat antijamur
7. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak aktif antijamur tertinggi dan pembandingnya yaitu mikonazol
8. Penetapan nilai banding ekstrak kloroform terhadap standart mikonazol

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Dasar FMIPA dan di Sub Lab Biologi Laboratorium Pusat Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta sejak bulan Januari 2008 – Januari 2009.

C. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Oven (Memert model 500), Blender (Miyako), Neraca Timbang (Denver TL 603 D dan Seout Proohaus), Statif dan Klem, Perforator diameter 6 mm, penguap vakum putar (Bibby RE 200B), Corong pisah, bejana KLT, Hotplate – stirrer (RCT Basic labor tehnik), pendeteksi UV (PUV/BDH), Penangas air, Autoklaf (Presoclave 75 p -

selecta), Botol semprot, Handmixer (Vortec mixer VM 300), Pembakar spiritus, Mikropipet 10 – 100 ml (Micropipet), Jarum ose, Cawan Petri, Laminar Air Flow (Minihelik II, dwyer), Inkubator (Hotcold MP - Selecta), Spatula Logam, Lemari Asam, Lemari Pendingin dan peralatan gelas lainnya yang biasa digunakan di laboratorium.

2. Bahan-bahan yang digunakan

a. Bahan yang diteliti

Bahan penelitian yang digunakan adalah buah pare belut diperoleh dari petani daerah Sukoharjo dan yang digunakan adalah bagian daging buahnya.

b. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pelarut organik yaitu metanol (redestilasi), heksana (redestilasi), etil asetat (redestilasi), butanol (Pro – analisis), kloroform (Pro analisis), Aseton teknis, aquades, Dimetil sulfoksida (DMSO), serbuk Mg (E. Merck), vanillin (pro - analisis), asam asetat anhidrat dari plat KLT silica gel F 254 (E. Merck), larutan pereaksi yang digunakan antara lain HCL 2M, larutan amil alkohol, FeCl_3 1% dalam air, H_2SO_4 pekat, pereaksi Meyer, pereaksi AlCl_3 1% dalam etanol, pereaksi dragendorf, pereaksi vanillin – H_2SO_4 .

c. Jamur Uji

Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans*, *Tricophyton sp*, dan *Michrosporum gypseum* yang diperoleh dari LIPI dan *Aspergillus niger* yang diperoleh dari PAU-UGM.

d. Media Perbenihan

Media perbenihan untuk jamur adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan kandungan bahan perliter sebagai berikut :

- Potato 4 gram
- Dextrose 20 gram
- Agar 15 gram

e. Zat Pembanding Antijamur

Zat pembanding yang digunakan sebagai standar antijamur dalam penelitian ini adalah mikonazol.

D. Prosedur penelitian

Bagan cara kerja penelitian dapat dilihat pada lampiran 1.

1. Determinasi dan Preparasi Sampel

Buah pare belut sebelumnya diidentifikasi oleh Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Buah pare belut kemudian dikupas, dicuci diiris tipis – tipis, diangin – anginkan 24 jam dan dikeringkan dalam oven selama 3 hari dengan suhu oven 55°C. Bahan kering digiling sampai berbentuk serbuk disimpan dalam wadah tertutup.

2. Maserasi Serbuk Pare Belut dengan Pelarut Metanol

Serbuk yang sudah didapat diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman bahan) menggunakan metanol selama 4 x 24 jam sambil diaduk tiap 1 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan secara vakum menggunakan penguap vakum putar dengan suhu 40°C sehingga dihasilkan ekstrak metanol.

3. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol

Ekstrak metanol diuji aktivitas antijamurnya untuk mengetahui aktivitas antijamur. Ekstrak dibuat konsentrasi tertentu dengan pelarut Dimetil Sulfoksida (DMSO). Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan 2 metode yaitu metode difusi lubang (perforasi) untuk jamur *C. albicans* dan metode gores silang untuk jamur *A. niger*, *Tricophyton sp*, dan *M. gypseum* dengan tahapan kerja sebagai berikut:

a. Pembuatan Media

Potato Dextrose Agar (PDA) ditimbang sebanyak 39 g kemudian dilarutkan kedalam 1 L akuades dipanaskan diatas hotplate-stirer sampai mendidih sehingga terbentuk larutan agar. Larutan agar tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml untuk agar miring dan ke dalam botol kaca tertutup sebanyak 15 ml untuk pengujian antijamur. Tabung reaksi dan botol kaca tertutup yang berisi agar disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20

menit.

b. Penyediaan jamur uji

Jamur uji dibiakkan pada agar miring yang telah disiapkan dan di inkubasi pada suhu 30°C selama 1 hari untuk jamur *C. albicans* dan 7 hari untuk jamur *A. niger*, *Tricophyton sp*, dan *M. Gypseum*.

c. Penyediaan Suspensi Jamur Uji

Jamur uji yang berumur 7 hari (untuk metode gores silang) dan 1 hari (untuk metode perforasi) disuspensikan dalam 3 ml akuades steril.

d. Pengujian aktivitas Antijamur

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan menggunakan metode difusi agar, yaitu metode perforasi (lubang) dan metode gores silang. Ekstrak dibuat beberapa konsentrasi yaitu $2,5 \cdot 10^5$ ppm (b/v) atau berat sampel 5 mg / lubang, $5 \cdot 10^5$ ppm (b/v) atau berat sampel 10 mg/lubang, $7,5 \cdot 10^5$ ppm (b/v) atau berat sampel 15 mg/lubang dan $1 \cdot 10^6$ ppm (b/v) atau berat sampel 20 mg /lubang dimana volume setiap lubang 20 μ L terhadap jamur uji *C. albicans* dengan dilarutkan dalam pelarut Dimetil Sulfoksida (DMSO) sedangkan terhadap jamur *A. niger*, *Tricophyton sp*, dan *M.gypseum* ekstrak dibuat konsentrasi $2,5 \cdot 10^5$ ppm (b/v) atau berat sampel 12,5 mg / cawan petri, $5 \cdot 10^5$ ppm (b/v) atau berat sampel 25 mg/ cawan petri, $7,5 \cdot 10^5$ ppm (b/v) atau berat sampel 37,5 mg/ cawan petri dan $1 \cdot 10^6$ ppm (b/v) atau berat sampel 50 mg / cawan petri dimana volume sampel 50 μ L. Perhitungan konversi satuan dalam pembuatan sampel dapat dilihat pada lampiran 4.

1. Metode Gores Silang

Media agar dimasukan ke dalam cawan petri lalu didiamkan sampai padat. Tepi cawan dipanas-panaskan memutar lalu memanaskan pinset untuk mengambil kertas saring dan meletakkannya diatas media agar. Mengambil 50 ml sampel dengan mikropipet, meratakannya pada kertas saring. Kemudian memanaskan jarum ose untuk menggesek jamur (jangan sampai menyentuh kertas saring).

Setelah selesai, cawan dibungkus kertas lagi kemudian di inkubasi selama 7 x 24 jam pada suhu 30°C.

2. Metode Perforasi

Memanaskan jarum ose untuk menggesek jamur lalu disuspensikan dalam 3 ml akuades steril sambil diaduk – aduk. Kemudian mengambil 100ml suspensi jamur dengan mikropipet (dikocok – kocok dulu agar homogen) lalu memasukkannya ke dalam cawan. Memasukkan media agar ke dalam cawan, menggoyang – goyangnya pelan lalu didiamkan sampai padat. Memanaskan perforator untuk membuat 2 lubang pada media agar, lalu perforator dipanaskan lagi dan diletakkan dalam gelas berisi etanol teknis. Memanaskan spatula untuk mengambil potongan lubang pada media agar. Kemudian mengambil 20 ml sampel dengan mikropipet dan memasukkannya dalam lubang. Cawan kemudian diinkubasi di dalam inkubator bersuhu 30°C selama 24 jam, setelah lewat masa inkubasi dengan menggunakan jangka sorong diukur diameter hambatan yang terbentuk berupa daerah bening sekeliling lubang sebagai parameter untuk menentukan besarnya aktivitas antijamur dari ekstrak yang diuji. Bagan cara kerja pengujian antijamur dapat dilihat pada lampiran 3.

4. Ekstraksi Bertahap Terhadap Ekstrak Metanol

Ke dalam ekstrak metanol sebanyak 150,19 gram ditambahkan 200 ml pelarut metanol dan air dengan perbandingan 4 : 1, kemudian diekstraksi dengan 300 ml heksana dalam corong pisah, lapisan atas (heksana) dipekatkan dengan penguap vakum putar dengan suhu 40°C dan dihasilkan ekstrak heksana. Lapisan bawah kemudian diekstraksi dengan kloroform sebanyak 300 ml, lapisan bawah (kloroform) diuapkan dengan penguap vakum putar dengan suhu 40°C dan diperoleh ekstrak kloroform. Lapisan atas diekstraksi dengan etil asetat sebanyak 300 ml, lapisan atas (etil asetat) diuapkan dan diperoleh ekstrak etil asetat. Lapisan bawah diekstraksi kembali dengan butanol. Setiap ekstraksi dibagi menjadi beberapa corong pisah dengan volume total 100 mL untuk setiap corong pisah. Bagan ekstraksi buah pare belut dengan berbagai pelarut dapat dilihat pada lampiran 5.

5. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak – Ekstrak Hasil Ekstraksi Bertahap

Pengujian aktivitas antijamur ekstrak – ekstrak hasil ekstraksi bertahap sama seperti pada pengujian yang dilakukan pada ekstrak metanol.

6. Pengujian Golongan Senyawa yang Bersifat Antijamur

Pemeriksaan kualitatif golongan senyawa dilakukan dengan penapisan fitokimia dan uji penegasan golongan senyawa dengan KLT. Penapisan fitokimia dilakukan untuk ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur (ekstrak aktif) yang meliputi pengujian terhadap golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin dan polifenol, flavonoid, terpenoid dan fenolat. Uji penegasan dilakukan terhadap ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak aktif antijamur tertinggi selanjutnya dilakukan uji penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis. Prosedur pembuatan reagen dapat dilihat pada lampiran 6. Penapisan fitokimia dilakukan dengan tahapan kerja sebagai berikut:

a. Pengujian Alkaloid

Ekstrak diambil sedikit, ditambah dengan HCl 2M, dipanaskan di atas air sambil diaduk, kemudian didinginkan hingga suhu ruang. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring, kemudian filtrat ditambah HCl 2M hingga volume tertentu. Filtrat dibagi ke dalam 2 tabung reaksi, tabung 1 ditambah dengan reagen wagner dan tabung 2 sebagai blangko. Tabung 1 diamati terbentuknya endapan dan dibandingkan dengan larutan blangko pada tabung 2. Jika tidak terbentuk endapan, bahan tidak mengandung alkaloid dan jika terbentuk endapan pada bahan terdapat alkaloid (Dewi, 2008).

b. Pengujian Saponin

Diambil sedikit ekstrak dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Ekstrak ditambah akuades dengan perbandingan ekstrak dan akuades 1 : 1, kemudian dikocok dan didiamkan. Jika terbentuk buih yang tidak menghilang selama 30 menit, maka ekstrak tanaman tersebut mengandung saponin (Dewi 2008).

c. Pengujian flavonoid

Ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% dibagi menjadi 2 tabung. Tabung 1 sebagai blangko. Tabung 2 ditambah dengan 2 tetes HCl pekat, diamati warna

yang terjadi dan dibandingkan dengan larutan blangko. Larutan dihangatkan di atas pemanas air selama 15 menit, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Terbentuknya warna merah kuat atau violet, menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

d. Pengujian Tanin dan Polifenol

Ekstrak ditambah akuades panas, kemudian diaduk dan didinginkan. Setelah itu lima tetes NaCL 10% ditambahkan dan disaring. Filtrat dibagi bagian A, B, dan C. Filtrat A sebagai blangko, ke dalam filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl_3 dan ke dalam filtrat C ditambah larutan gelatin, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin terkondensasi dan warna selain warna di atas menunjukkan adanya polifenol. Tanin jika ditambah larutan gelatin akan terjadi endapan (Dewi, 2008).

e. Terpenoid

Ekstrak diletakkan pada plat kemudian ditambah asam asetat anhidrat sampai terendam dan dibiarkan selama 5 menit, kemudian ditambah H_2SO_4 pekat. Perubahan warna menjadi biru atau biru-hijau menunjukkan positif triterpenoid (Padmawinata dan Sudiro, 1996).

f. Fenolat

Ekstrak ditambah dengan larutan besi (II) klorida 1% dalam air. Fenolat positif jika terjadi perubahan warna hijau, merah ungu, biru/hitam (Harborne, 1987).

Ekstrak aktif antijamur tertinggi selanjutnya dilakukan uji penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat KLT silica gel F₂₅₄ (E. Merck). Ekstrak ditotolkan pada plat dan dielusi dengan pengembang heksana : kloroform dengan perbandingan masing-masing 7:3, 1:1, dan 3:7. Hasil pemisahan dideteksi bercaknya dengan sinar UV panjang gelombang 365 nm dan 254 nm dan dicari pengembang yang memisahkan bercak dengan sempurna. Setelah mendapatkan pengembang dengan pemisahan yang sempurna dilakukan uji kualitatif golongan senyawa dengan pengamatan bercak pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 365 nm setelah penyemprotan reagen spesifik. Reagen

penyemprot yang dipakai adalah AlCl_3 untuk senyawa flavonoid, SbCl_3 20% dalam kloroform untuk senyawa saponin, vanilin H_2SO_4 untuk senyawa terpenoid, FeCl_3 untuk senyawa tanin dan fenolat. Hasil penampakan sejumlah noda yang ada kemudian dicocokkan dengan dasar teori.

7. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan nilai Banding

Penetapan KHM mempunyai tujuan untuk mengetahui kadar minimum ekstrak aktif tertinggi yang masih menimbulkan hambatan terhadap pertumbuhan jamur. Metode yang digunakan sama seperti metode perforasi yang dipakai dalam pengujian aktivitas antijamur ekstrak metanol dengan melakukan variasi konsentrasi sampel. Pengujian ekstrak kloroform menggunakan konsentrasi 100.000 ppm atau 100 mg/mL, 50.000 ppm atau 50 mg/mL, 25.000 ppm atau 25 mg/mL, 12.500 ppm atau 12,5 mg/mL, 6250 ppm atau 6,25 mg/mL dan 3.125 ppm atau 3,125 mg/mL. Untuk mikonazol menggunakan konsentrasi 10 ppm atau 0,01 mg/ml sampai dengan 200 ppm atau 0,2 mg/mL.

Standar yang digunakan adalah mikonazol nitrat untuk uji antijamurnya dan sebagai pembanding digunakan baku dengan perlakuan yang sama seperti sampel uji. Dari hasil yang diperoleh kemudian dibuat kurva baku antara log konsentrasi (ppm) terhadap diameter hambatan (mm). Kurva ini digunakan sebagai pembanding bagi sampel yang memiliki aktivitas antijamur tertinggi dengan cara menarik garis lurus yang memotong kurva baku dan diameter hasil pengamatan sehingga diperoleh harga log konsentrasi dan kemudian dihitung antilognya untuk mendapatkan konsentrasi yang sebenarnya. Nilai banding sampel terhadap baku mikonazol dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Nilai Banding} = \frac{\text{Konsentrasi Sampel dari Kurva}}{\text{Konsentrasi Sampel Sebenarnya}} \times 100\%$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Sampel

Determinasi sampel buah pare belut dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Hasil determinasi menunjukkan bahwa buah yang diteliti merupakan jenis *Trichosanthes anguina* L. Hasil determinasi sampel buah pare belut selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 2.

B. Preparasi Sampel

Sampel basah buah pare belut 24,06 kg dikeringkan dalam oven suhu 55°C selama 72 jam. Pengeringan dengan suhu rendah 55°C, karena pengeringan yang dilakukan pada suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan perubahan kimia pada kandungan senyawa aktif (Anonim, 1985). Pengeringan dalam oven tersebut berfungsi untuk mempercepat penghilangan air dan mendapatkan bahan dengan kadar air yang rendah, sehingga bahan tidak menjadi busuk dalam penyimpanan. Dari proses pengeringan tersebut diperoleh sampel kering (*simplisia*) sebanyak 1137,81 g.

Sampel yang sudah kering kemudian digiling sehingga diperoleh serbuk buah pare belut sebanyak 1001,551g. Penggilingan dilakukan dengan maksud untuk memperluas luas permukaan agar sel jaringan yang mengandung senyawa yang akan diisolasi mudah diikat oleh pelarut dan senyawa tersebut dapat larut sebanyak mungkin dalam pelarut. Serbuk buah pare belut selanjutnya dilakukan ekstraksi maserasi.

C. Maserasi Simplisia

Serbuk buah pare belut diekstraksi dengan metode maserasi (perendaman bahan) menggunakan pelarut metanol selama 4 x 24 jam sambil diaduk tiap 1 jam. Maserasi dipilih karena ekstraksi ini tidak melibatkan pemanasan sehingga perubahan-perubahan senyawa dapat dihindari, selain itu sampel yang digunakan

banyak untuk maserasi. Menurut Lenny (2006), proses maserasi sangat menguntungkan untuk isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman ekstrak tumbuhan dapat menyebabkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna. Maserasi juga dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Nobre, Moura (2005 : 562-565) membandingkan kadar flavonoid *Momordica charantia* L. menggunakan metode maserasi dan perkolasi, hasilnya bahwa metode maserasi lebih baik.

Metanol dipilih sebagai pelarut karena memiliki kepolaran yang tinggi sehingga mampu melarutkan sebagian besar senyawa yang ada dalam simplisia sehingga diharapkan senyawa-senyawa yang bersifat antijamur dapat terekstrak di dalam metanol. Pelarut dengan kepolaran rendah, lebih sedikit menarik ekstrak aktif dibandingkan dengan campuran etanol dan metanol atau metanol saja (Tsuda:1994 dalam Ismail, *et al.*, 2004 : 581-586). Penelitian Oluwaseun, Ganiyu (2008 : 3138-3142) juga mempergunakan metanol untuk mengekstraksi *Viscum Album* dan terbukti tanaman tersebut banyak mengandung fenolat.

Maserasi berupa serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga interaksi pelarut dengan senyawa yang akan diambil lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak sempurna. Pengadukan berkala bertujuan untuk menghindari memadatnya serbuk sehingga pelarut sulit menembus bahan dan kesulitan mengambil senyawa-senyawa aktif karena serbuk yang digunakan banyak. Dari ekstraksi maserasi dapat dihasilkan ekstrak metanol kental yang berwarna hijau kecoklatan sebanyak 204,409 g dengan rendemen 20,409% (b/b). Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 7. Ekstrak metanol kental yang diperoleh dari ekstraksi maserasi ini, kemudian dilakukan uji aktivitas antijamur pada ekstrak metanol.

D. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol

Ekstrak metanol kental yang didapatkan dari ekstraksi maserasi, kemudian dilakukan pengujian aktivitas antijamur untuk mengetahui apakah ekstrak metanol

mempunyai aktivitas antijamur atau tidak. Uji aktivitas antijamur ekstrak metanol dilakukan terhadap jamur *C. albicans*, *Tricophyton sp*, *A. niger* dan *M. gypseum*. Penelitian menggunakan 2 metode yaitu, metode difusi agar yang diberi lubang (metode perforasi) dengan diameter lubang 6 mm untuk *C. albicans* karena pertumbuhan jamur ini merata pada media agar dan hifa yang dimiliki oleh jamur *C. albicans* ini pendek, sedangkan untuk jamur uji *A. niger*, *Tricophyton .sp* dan *M. gypseum* menggunakan metode gores silang, karena pertumbuhan jamur ini tidak merata pada bagian media agar dan mempunyai hifa yang panjang. Penelitian ini menggunakan 4 jamur uji dengan tujuan untuk mengetahui ekstrak metanol tersebut positif sebagai antijamur terhadap semua jamur uji atau hanya terhadap jamur tertentu saja.

Ekstrak metanol tersebut dibuat beberapa konsentrasi dengan melarutkannya dalam pelarut Dimetil Sulfoksida (DMSO). DMSO digunakan sebagai pelarut untuk kontrol negatif, karena DMSO merupakan pelarut polar aprotik, tidak berwarna yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar yang mempunyai range luas dari pelarut organik seperti halnya air dan tidak mempunyai aktivitas biologi. Titik didihnya tinggi sehingga menguap secara perlahan pada tekanan udara normal dan titik bekunya juga tetap tinggi (www.medicallibrary.net) dan DMSO tidak aktif sebagai antijamur yang telah dilakukan dan dibuktikan dalam penelitian Harliana, 2006.

Hasil pengujian aktivitas antijamur ekstrak metanol dapat dilihat pada Tabel 1 terhadap jamur *C. albicans* dan Tabel 2 terhadap jamur *A. niger*, *Tricophyton sp*, dan *M. gypseum*, sedangkan untuk diameter hambat pengujian aktivitas antijamur ekstrak metanol dapat dilihat pada lampiran 8. Ekstrak metanol aktif menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Ekstrak metanol tidak aktif menghambat pertumbuhan jamur *A. niger*, *Tricophyton sp*, dan *M. gypseum*. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya daerah bening. Foto hasil uji antijamur ekstrak metanol dapat dilihat pada lampiran 9.

Berdasarkan hasil Tabel 1 dan 2 dapat diketahui bahwa ekstrak metanol pare belut aktif terhadap jamur *C. albicans*, hal ini juga ditunjukkan pada penelitian yang lain. Penelitian Harliana menunjukkan bahwa ekstrak metanol

Rimpang Temu Glenyeh aktif terhadap jamur uji *C. albicans* dan penelitian yang dilakukan oleh Febrianti (2005) menunjukkan bahwa ekstrak metanol Rimpang Temu Tis (*Curcuma purpurascens* BL.) aktif terhadap jamur uji *C. albicans*. Penelitian Swamy dan Jayaveera (2007) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Momordica Cymbalaria* mempunyai aktivitas antijamur. Ekstrak metanol pare belut dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* sedangkan untuk ketiga jamur lainnya tidak dapat menghambat pertumbuhannya, sehingga untuk selanjutnya dilakukan uji antijamur hanya terhadap jamur *C. albicans* saja.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Kental Pare Belut Terhadap Jamur *C. albicans* dengan Metode Perforasi

Berat Sampel (mg/lubang)	Diameter Daerah Hambat (mm) \pm SD
5	11,04 \pm 0,12
10	12,25 \pm 0,09
15	12,44 \pm 0,23
20	14,02 \pm 0,42

Keterangan : Diameter lubang = 6 mm

X = nilai rata-rata; SD= standar deviasi; Pengulangan dilakukan sebanyak 2 kali

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Kental Pare Belut Terhadap Jamur *Tricophyton* sp, *A. Niger*, dan *M. gypseum* dengan Metode Gores Silang

Konsentrasi (mg/cawan petri)	Panjang Daerah Hambat (mm)		
	<i>Tricophyton</i>	<i>A. niger</i>	<i>M. gypseum</i>
12,5	0	0	0
25	0	0	0
37,5	0	0	0
50	0	0	0

Keterangan : (0) = tidak menghambat pertumbuhan jamur

Pengulangan dilakukan sebanyak 2 kali

Pengaruh bertambahnya berat sampel terhadap masing – masing jamur

dan pengaruh variasi jamur pada masing-masing berat sampel dalam menghambat pertumbuhan jamur uji dapat diketahui dengan analisa data Oneway – ANOVA Hasil perhitungan statistik hasil uji aktivitas antijamur ekstrak metanol dengan analisa Oneway – ANOVA dapat dilihat pada lampiran 10. Dari hasil analisa data tersebut menunjukkan bahwa bertambahnya konsentrasi atau berat sampel ekstrak metanol dari 5 mg/lubang sampai dengan berat sampel 20 mg/lubang berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* ditandai dengan beda nyata yang signifikan ($\text{Sig} < 0,05$) antara berat sampel 5 mg/lubang sampai dengan berat sampel 20 mg/lubang.

Adanya variasi jamur pada berat sampel 15 mg/lubang dan 20 mg/lubang terhadap penghambatan pertumbuhan jamur uji, secara umum menunjukkan perbedaan yang nyata, analisa lebih lanjut dengan LSD untuk mengetahui perbedaan antar jamur uji dalam berat sampel 15 mg/lubang dan 20 mg/lubang. Hasil analisa menunjukkan perbedaan antara jamur *C. albicans* dengan ketiga jamur lainnya nyata dan signifikan ($\text{Sig} < 0,05$) dan antara ketiga jamur tersebut yaitu *Tricophyton sp*, *A. niger*, dan *M. gypseum* menunjukkan pengaruh yang sama sehingga tidak signifikan ($\text{Sig} > 0,05$).

Pengujian aktivitas antijamur ekstrak metanol buah pare belut ini merupakan pengujian awal. Setelah ekstrak metanol positif sebagai antijamur, kemudian dilakukan ekstraksi bertahap pada ekstrak metanol tersebut dengan menggunakan pelarut yang mempunyai kepolaran yang meningkat untuk memisahkan senyawa – senyawa yang terkandung pada ekstrak metanol berdasarkan perbedaan kepolaran.

E. Ekstraksi Bertahap Terhadap Ekstrak Metanol

Ekstrak metanol yang telah diuji aktivitas antijamur, kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang kepolarannya semakin meningkat. Ekstrak metanol buah belut sebanyak 150,19 g diencerkan dengan campuran metanol : air (4 : 1) sebanyak 200 mL. Ekstrak diencerkan terlebih dahulu dengan maksud untuk memperoleh larutan yang tidak terlalu pekat sehingga mempermudah dalam proses ekstraksi. Larutan ekstrak yang diperoleh sebanyak 300 ml.

Larutan tersebut kemudian diekstraksi bertahap dengan pelarut heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol. Dari semua larutan hasil ekstraksi tersebut dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak yang kental atau pekat. Hasil ekstraksi bertahap dapat dilihat pada Tabel 3. Ekstrak – ekstrak kental hasil ekstraksi bertingkat kemudian dilakukan pengujian aktivitas antijamur terhadap jamur uji *C. albicans* yang bertujuan untuk mengetahui ekstrak yang aktif sebagai antijamur.

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Bertahap Terhadap Ekstrak Metanol Kental

Pelarut	Berat ekstrak (g)	Warna
Heksana	4,443	Hijau kehitaman
Kloroform	4,942	Hijau tua
Etil Asetat	2,745	Coklat tua
Butanol	3,330	Coklat muda
Air	98,042	Coklat tua

F. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak–Ekstrak Hasil Ekstraksi Bertahap

Ekstrak – ekstrak yang didapatkan dari ekstraksi bertahap kemudian dilakukan pengujian aktivitas antijamur untuk mengetahui ekstrak yang aktif sebagai antijamur. Uji aktivitas antijamur hanya dilakukan terhadap jamur *C. albicans* saja karena pada maserasi menggunakan metanol dimungkinkan mampu melarutkan sebagian besar senyawa yang ada dalam simplisia sehingga senyawa-senyawa yang bersifat antijamur dapat terekstrak semua di dalam metanol. Terhadap ekstrak metanol dilakukan uji pada 4 jamur dengan konsentrasi 75% atau 15 mg/lubang untuk *C. albicans* dan 37,5 mg/cawan petri untuk *Tricophyton sp*, *A. niger*, dan *M. gypseum* yang hasilnya diketahui bahwa ekstrak metanol tidak aktif menghambat pertumbuhan jamur *Tricophyton sp*, *A. niger*, dan *M. gypseum*. Pada konsentrasi 75% cukup mengandung senyawa aktif yang tinggi dan memberikan respon negatif terhadap pertumbuhan ketiga jamur tersebut (*Tricophyton sp*, *A. niger*, dan *M. gypseum*), sehingga diperkirakan dalam

ekstrak-ekstrak lainnya (heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol) sudah memberikan respon negatif terhadap ketiga jamur tersebut.

Semua ekstrak dibuat konsentrasi yang sama yaitu 75% atau berat sampel 15 mg/lubang dengan pelarut DMSO. Konsentrasi yang dipilih 15 mg/lubang karena dengan konsentrasi yang besar akan dapat memberi gambaran secara jelas penghambatan pertumbuhan jamur dan dapat disimpulkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi tersebut aktif sebagai antijamur. Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak – ekstrak hasil ekstraksi bertingkat dapat dilihat pada Tabel 4, sedangkan diameter hambat hasil pengujian aktivitas antijamur dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak – ekstrak Hasil Ekstraksi Bertahap terhadap Jamur *C. albicans*

Ekstrak (15 mg/lubang)	Diameter Hambat (mm) $(\bar{X} \pm SD)$
Heksana	6,00 \pm 0,00
Kloroform	24,98 \pm 1,16
Etil Asetat	22,83 \pm 0,50
Butanol	17,87 \pm 1,30
Air	6,00 \pm 0,00

Keterangan : Diameter lubang = 6 mm

X = nilai rata-rata; SD= standar deviasi

Pengulangan dilakukan sebanyak 2 kali

Ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur (ekstrak aktif) yaitu ekstrak kloroform, etil asetat, dan butanol. Dari ketiga ekstrak aktif tersebut, ekstrak aktif yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi terhadap jamur uji *C. albicans* adalah ekstrak kloroform yang diikuti oleh ekstrak etil asetat dan butanol. Ekstrak heksana dan ekstrak air tidak mempunyai aktivitas antijamur terhadap jamur uji *C. albicans* ditunjukkan dengan tidak adanya diameter hambat disekitar lubang. Foto hasil uji aktivitas antijamur ekstrak-ekstrak hasil ekstraksi bertahap dapat

dilihat pada lampiran 12.

Ekstrak kloroform mempunyai rata – rata diameter hambat tertinggi yang didukung dengan analisa data Oneway-ANOVA, sehingga dapat ditentukan bahwa ekstrak kloroform sebagai ekstrak aktif antijamur tertinggi. Hasil perhitungan statistik hasil uji aktivitas ekstrak-ekstrak hasil ekstraksi bertahap dapat dilihat pada lampiran 13.

Berdasarkan hasil analisa secara umum dengan adanya variasi ekstrak pada masing – masing jamur uji, analisa dengan LSD menunjukkan pada uji antijamur terhadap *C. albicans* untuk ekstrak kloroform mempunyai pengaruh yang berbeda dan signifikan dibandingkan dengan ekstrak – ekstrak lainnya.

Ekstrak kloroform, etil asetat, dan butanol aktif sebagai antijamur kemudian untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang aktif maka dilakukan pengujian golongan senyawa. Sedangkan terhadap ekstrak kloroform yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi dilakukan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji banding terhadap obat antijamur mikonazol.

G. Pengujian Golongan Senyawa Yang Bersifat Antijamur

Ekstrak metanol, heksana, kloroform, etil asetat dan butanol yang aktif antijamur dilakukan pengujian golongan senyawa dengan penapisan fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui golongan – golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Ekstrak kloroform yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi dilakukan uji kualitatif dengan KLT yang bertujuan untuk mempertegas senyawa – senyawa yang terdapat pada ekstrak kloroform. Pengujian dilakukan terhadap golongan senyawa yang secara teori dan hasil penelitian sebelumnya telah dibuktikan sebagai senyawa aktif antijamur seperti golongan senyawa alkaloid, fenolat, terpenoid, saponin, dan tanin/polifenol. Hasil dari pengaruh senyawa dengan penapisan fitokimia ekstrak metanol, heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol dapat dilihat pada Tabel 5 dan hasil penapisan fitokimia golongan senyawa kimia selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 14 .

Ekstrak metanol jika dibandingkan dengan ekstrak-ekstrak lainnya memberikan hasil uji yang positif untuk semua golongan senyawa, hal ini karena

pelarut metanol memiliki kepolaran yang tinggi sehingga mampu melarutkan sebagian besar senyawa yang ada dalam simplisia sehingga senyawa-senyawa yang bersifat antijamur dapat terekstrak di dalam metanol. Semua ekstrak menunjukkan uji positif terhadap golongan senyawa alkaloid, fenolat, dan flavonoid, hal ini karena dalam satu golongan senyawa terdiri dari senyawa yang bersifat non polar, semi polar, dan polar.

Hasil positif saponin ditunjukkan oleh ekstrak metanol. Ekstrak kloroform, etil asetat dan butanol menunjukkan hasil yang negatif karena saponin kemungkinan saponin terekstrak dalam ekstrak air yang mempunyai kepolaran paling tinggi diantara ekstrak lainnya, walaupun pada ekstrak air tidak dilakukan uji penapisan fitokimia.

Tabel 5. Hasil Pengujian Golongan Senyawa Ekstrak Metanol, Kloroform, Etil asetat, dan Butanol

Uji Golongan Senyawa	Ekstrak			
	Metanol	Kloroform	Etil asetat	Butanol
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolat	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	-
Tanin dan Polifenol	+	+	+	-
Flavonoid	+	+	+	+
Terpenoid	+	+	-	-

Ket: + : mengandung golongan yang dimaksud

- : tidak mengandung golongan yang dimaksud

Hasil uji positif tanin dan polifenol ditunjukkan pada ekstrak metanol, kloroform, etil asetat. Ekstrak kloroform mempunyai kepolaran paling rendah dibandingkan ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat, sehingga tanin dan polifenol yang terekstrak dalam ekstrak kloroform bersifat mempunyai kepolaran yang rendah.

Hasil uji positif terpenoid ditunjukkan oleh ekstrak metanol dan ekstrak kloroform. Ekstrak etil asetat dan butanol menunjukkan hasil yang negatif, hal ini menunjukkan bahwa terpenoid yang terdapat dalam ekstrak sebagian besar bersifat mempunyai kepolaran yang rendah.

Ekstrak metanol yang mengandung semua golongan senyawa uji, jika dibandingkan dengan ekstrak kloroform mempunyai panjang diameter hambat lebih kecil. Hal tersebut dikarenakan hasil uji penapisan fitokimia di atas dapat disimpulkan bahwa yang aktif menghambat pertumbuhan jamur atau yang bersifat sebagai antijamur adalah golongan senyawa yang sebagian besar mempunyai kepolaran yang rendah yang terdapat dalam ekstrak kloroform.

Ekstrak kloroform mengandung senyawa yang dapat bersifat sebagai antijamur dan mempunyai aktivitas tertinggi sebagai antijamur buah pare belut. Untuk selanjutnya ekstrak kloroform dilakukan uji kualitatif dengan KLT yang bertujuan untuk mempertegas senyawa – senyawa yang terdapat pada ekstrak kloroform.

Berdasarkan hasil pengujian senyawa sebelumnya dengan penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kloroform buah pare belut mengandung senyawa alkaloid, fenolat, tanin dan polifenol, flavonoid dan terpenoid. Oleh karena itu, uji kualitatif KLT hanya dilakukan untuk kelima senyawa tersebut. Larutan pengembang yang dipakai untuk uji KLT ini adalah larutan heksana : kloroform dengan komposisi (7 : 3); heksana : kloroform (1 :1) dan heksana : kloroform (3 : 7). Pengembang yang digunakan yaitu heksana : kloroform (1:1) karena mempunyai pemisahan yang baik.

Plat KLT yang telah dielusi kemudian disemprot dengan reagen spesifik dan diamati bercaknya dibawah sinar tampak dan sinar UV 365 nm. Hasil pada uji KLT ini dapat dilihat pada Tabel 6 dan gambar hasil uji KLT dapat dilihat pada lampiran 15.

Penyemprot yang digunakan pada uji KLT ini berbeda-beda untuk setiap uji. Untuk uji KLT pada golongan senyawa flavonoid menggunakan reagen AlCl_3 1% sebagai pendeteksi senyawa tersebut. Plat setelah disemprot dengan reagen AlCl_3 1% menimbulkan bercak pada R_f 0,36 dan 0,24 berwarna kuning.

Tabel 6. Hasil Uji Kualitatif Dengan KLT Ekstrak Kloroform Pare Belut

Penegasan Fitokimia Dengan KLT						Ket	Penapisan Fitokimia
Kandungan Kimia	RF	Sinar Tampak		UV 365 nm			
		Teori	Hasil Uji	Teori	Hasil Uji		
Flavonoid	0,36 0,24	Kuning	Kuning	Noda berflouresensi kuning	Kuning	+	+
Alkaloid	0,07	Coklat kemerahan	Coklat kemerahan	-	Coklat kemerahan	+	+
Tanin dan Fenolat	0,13 0,07 0,05	Hijau	Hijau	-	Hijau	+	+
Terpenoid	0,10	Ungu	Ungu	-	Ungu	+	+

Uji KLT untuk senyawa terpenoid disemprot dengan reagen Vanilin – H_2SO_4 yang akan memberikan warna ungu jika terdapat senyawa terpenoid (Wagner, 1981). Plat yang telah disemprot dengan Vanilin- H_2SO_4 menunjukkan warna ungu dengan Rf 0,1. Uji KLT pada tanin dan fenolat disemprot dengan FeCl_3 1% menunjukkan bercak warna hijau pada sinar tampak dan UV 365 nm pada Rf 0,13; 0,07 dan 0,05 . Persenyawaan fenolik akan berwarna hijau, merah, ungu hingga biru/kehitaman setelah disemprot FeCl_3 (Harborne , 1996). Sehingga pada ekstrak kloroform pada uji sebelumnya dipertegas dengan KLT dapat disimpulkan mengandung senyawa tanin dan fenolat.

Uji KLT pada alkaloid menggunakan penyemprot dragendorf. Alkaloid akan berwarna coklat kemerahan setelah disemprot dengan dragendorf (Harborne , 1996). Pada ekstrak kloroform setelah disemprot dengan dragendorf menunjukkan bercak warna coklat kemerahan dengan nilai Rf 0,07. Sehingga pada ekstrak kloroform mengandung senyawa alkaloid yang mempertegas uji sebelumnya.

Senyawa yang terkandung di dalam ekstrak kloroform pare belut yang aktif sebagai antijamur dapat bekerja melalui salah satu dari cara berikut ini. Tanin bekerja dengan cara mengendapkan protein dan dapat merusak membran sel

sehingga pertumbuhan jamur terhambat (Utami , S.C., 2007). Gugus flavonoid dapat bertindak sebagai antijamur karena mempunyai fenol yang dapat mendenaturasi protein dan dapat merusak membran sel yang bersifat irreversible (tidak dapat diperbaiki lagi) (Pelczar dan Chan, 1988). Semakin lipofilik suatu flavonoid semakin merusak membran mikroba (Cowan, 1999). Mekanisme kerja fenol yaitu fenol dapat membentuk kompleks dengan ergosterol yang terdapat dalam membran sel jamur, kompleks tersebut menyebabkan pori- pori membesar pada sel jamur. Lewat pori – pori inilah komponen kecil dari isi sel jamur keluar seperti asam nukleat dan protein lainnya. Hal tersebut bila terus berlangsung akan menyebabkan kematian jamur. Kompleks fenol berada dalam keadaan lemah, disosiasi tidak langsung yang menyebabkan fenol menembus sel. Pada konsentrasi tinggi senyawa fenol dapat menyebabkan lisis pada sel membran. Fenol mempunyai kelarutan yang tinggi pada lipid, maka efek terbesar fenol adalah kemampuannya bergabung dengan komponen lipid sel. Membran sel pada jamur tersusun atas fosfolipid yang akan menyebabkan permeabilitas membran sel terganggu sehingga jamur terhambat (Fardiaz, 1992). Untuk selanjutnya ekstrak kloroform dilakukan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) untuk mengetahui kekuatan ekstrak sebagai antijamur.

H. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Kloroform dan Mikonazol

Konsentrasi Hambat Minimum adalah konsentrasi terendah antijamur yang masih mampu menghambat pertumbuhan jamur. Untuk memperoleh KHM ekstrak kloroform dan mikonazol, maka dilakukan uji mikonazol terhadap jamur *C. albicans*. Hasil uji penentuan KHM ekstrak kloroform diperoleh besarnya KHM ekstrak klorofom sebesar 6,25 mg/mL dengan diameter hambat sebesar $(6,31 \pm 0,07)$ mm dan untuk data hasil uji KHM ekstrak kloroform selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 17. Hasil konsentrasi hambat minimum (KHM) mikonazol sebesar 0,02 mg/mL dengan diameter hambat sebesar $(7,44 \pm 0,33)$ mm dan untuk data hasil uji KHM selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 20.

Ekstrak kloroform dengan konsentrasi terkecil yaitu konsentrasi 6,25 mg/mL masih dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* sedangkan pada konsentrasi terkecil 3,125 mg/mL sudah tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Hasil pengujian KHM ekstrak kloroform dapat dilihat pada lampiran 17 dan foto hasil uji dapat dilihat pada lampiran 18. Mikonazol mempunyai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 0,02 mg/mL. Semakin kecil konsentrasi hambat minimum ekstrak menandakan semakin potensial ekstrak tersebut sebagai antijamur, karena dengan konsentrasi kecil ekstrak sudah dapat menghambat pertumbuhan jamur. Hasil pengujian KHM ekstrak mikonazol selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 20, sedangkan foto hasil uji KHM standar mikonazol dapat dilihat pada lampiran 21.

Berdasarkan data Oneway ANOVA pada penentuan KHM kloroform dan KHM mikonazol menunjukkan adanya variasi konsentrasi ekstrak kloroform pada uji menunjukkan pengaruh yang berbeda dan signifikan dalam menghambat pertumbuhan jamur. Perhitungan statistik hasil uji KHM ekstrak kloroform dapat dilihat pada lampiran 19 dan KHM standar mikonazol pada lampiran 22.

Nilai KHM ekstrak kloroform jika dibandingkan dengan mikonazol, nilai ekstrak kloroform jauh lebih besar daripada ekstrak mikonazol sehingga potensi untuk menghambat jamur oleh ekstrak mikonazol yang merupakan obat sintetik jauh lebih bagus daripada ekstrak kloroform. Untuk selanjutnya ekstrak kloroform dilakukan uji banding dengan mikonazol sebagai obat antijamur, sehingga perbandingan ekstrak kloroform dengan mikonazol dapat diketahui besarnya.

I. Penetapan Nilai Banding Ekstrak Kloroform dengan Standart Mikonazol

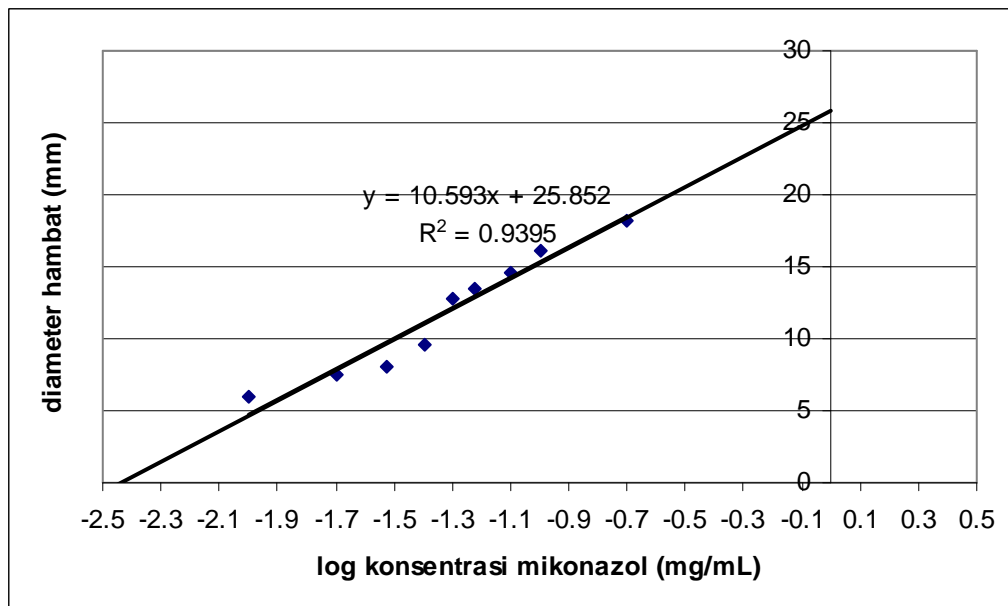
Penetapan nilai banding dilakukan dengan membandingkan ekstrak kloroform dengan mikonazol. Mikonazol digunakan sebagai pembanding karena bersifat fungisida kuat dengan spektrum kerja yang lebar dengan aktivitas yang mencakup hampir semua fungi patogen untuk manusia (Siswandono dan

Soekardjo, 1995). Mikonazol dapat menghambat sintesis ergosterol yang menyebabkan permeabilitas membran sel jamur meningkat (Bonang, 1982).

Pada penelitian Vibrianti (2005) dan Sukandar dkk (2006), penetapan KHM dengan cara kuantitatif menggunakan kurva hubungan antara diameter hambat (mm) dan log konsentrasi mikonazol (ppm). Pada penelitian ini dibuat kurva hubungan antara diameter hambat (mm) dan log konsentrasi mikonazol (mg/mL) seperti pada Gambar 16. Dengan logaritma maka range konsentrasi semakin kecil sehingga penyimpangan yang terjadi diantara dua range konsentrasi juga semakin kecil.

Pengujian aktivitas antijamur terhadap mikonazol dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi dimulai dari konsentrasi 0,01 mg/mL sampai dengan 0,2 mg/mL. Uji banding dilakukan bersamaan dengan ekstrak kloroform dengan konsentrasi 100 mg/mL dengan diameter hambat 10,61 mm. Dengan menggunakan persamaan garis linier dari kurva standar mikonazol, maka konsentrasi standar mikonazol pada diameter 10,61 mm dapat ditentukan, yaitu didapat nilai $x = -1,438$ dan antilog $x = 0,036$. Jadi dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 100 mg/mL, ekstrak kloroform mempunyai aktivitas antijamur setara dengan konsentrasi standar mikonazol sebesar 0,036 mg/mL. Perhitungan konsentrasi mikonazol dengan kurva standar dapat dilihat pada lampiran 23 .

Nilai banding ekstrak kloroform dengan standar mikonazol sebesar 0,036% yang grafiknya dapat dilihat pada Gambar 16. Semakin besar nilai banding terhadap mikonazol semakin potensial ekstrak untuk menjadi obat antijamur. Perhitungan penetapan nilai banding dapat dilihat pada lampiran 24.



Gambar 16. Grafik log konsentrasi mikonazol (mg/mL) terhadap diameter hambat (mm) terhadap jamur *C. albicans*

Pada kurva di atas dihasilkan kurva yang linier menunjukkan arah hubungan yang positif atau dengan kata lain semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula diameter hambatnya. Kurva tidak selalu linier dan mempunyai batas maksimum konsentrasi. Hal ini dipengaruhi dari standar pembanding yang digunakan, spesies jamur uji yang digunakan. Durmaz *et al.* (2006) menyatakan bahwa aktif tidaknya suatu antijamur yang ditandai perbedaan diameter hambat yang terjadi tergantung pada tipe dari ekstrak, spesies tanaman dan spesies dari jamur itu sendiri.

Berdasarkan nilai uji banding tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas antijamur ekstrak kloroform pare belut jauh lebih kecil dibandingkan dengan standar mikonazol. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan jamur oleh mikonazol lebih bagus daripada ekstrak kloroform buah pare belut. Semakin besar nilai banding terhadap mikonazol semakin potensial ekstrak untuk menjadi antijamur.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A.Kesimpulan

1. Ekstrak metanol buah pare belut memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, tetapi tidak terhadap *Aspergillus niger*, *Microsporum gypseum* dan *Tricophyton sp.*
2. Ekstrak-ekstrak yang aktif menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* yaitu ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat, dan ekstrak butanol. Ekstrak kloroform mengandung golongan senyawa alkaloid, fenolat, tanin dan polifenol, flavonoid dan terpenoid. Ekstrak etil asetat mengandung golongan senyawa alkaloid, fenolat, tanin dan polifenol, flavonoid, sedangkan ekstrak butanol mengandung golongan senyawa alkaloid, fenolat dan flavonoid.
3. Ekstrak yang mempunyai aktivitas antijamur tertinggi adalah ekstrak kloroform yang mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolat dan terpenoid.
4. Ekstrak kloroform mempunyai nilai Konsentrasi Hambat Minimum terhadap jamur *C. albicans* sebesar 6,25 mg/mL dan nilai banding ekstrak kloroform jika dibandingkan dengan mikonazol adalah 0,036 %.

B.Saran

Berdasarkan hasil penelitian penulis menyarankan bahwa penelitian uji aktivitas antijamur ini perlu dilakukan lebih lanjut sampai pemisahan senyawa-senyawa aktif sebagai antijamur yang terdapat dalam buah pare belut.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A., 1986, *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*, Universitas Terbuka, Depdikbud, Jakarta.
- Alexopoulos, C.J., 1952. *Introductory Micology*, John Wiley and Sons, USA.
- Anonim. 1985. *Sedian Galenik*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- _____, 1989. *Mikrologi Medik*. Jakarta. Puast Pendidikan Tenaga Kerja Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- _____, 1993. *Penapisan Farmakologi*. Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Yayasan Pengembangan Bahan Alam Phyto Medica.
- Ariani, Sri Retno Dwi., VH. Elfi Susanti., Susilawati, Endang, 2004, *Analisis Fitokimia Minyak Atsiri Rimpang Temu Glenyeh (Curcuma soloensis Val) dari daerah Karanganyar serta Pengaruhnya Terhadap Jamur Penyebab Utama Dematofitoris dan Kandidiasis*. Lembaga Penelitian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Basri, Poniah Andayaningsih., Rossiana, Nia, 2000, *Mikologi I*, Biologi, UNPAD, Bandung.
- Bonang, G. 1982. *Mikrobiologi*. Jakarta. cv EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Bylka, M. and Pilewski, 2004, *Review Article: Natural Flavonoid as Antimicrobial Agent*, JANA, Vol.7 , No.2, 2004
- Cheeke, P. R., 2000, *Actual and potential applications of Yucca schidigera and Quillaja saponaria saponins in human and animal nutrition*, Proceedings of the American Society of Animal Science, American Society of Animal Science.
- Cowan, 1999, *Plant Product as Antimicrobial Agents*, Clinical Microbiology Reviews, October, p. 564-582, Vol. 12, No. 4
- Dewi, A.P.K. 2008. *Laboratorium Fitokimia*. B2P2TO2T, Tawangmangu, Terjemahan: *Phytochemical. Microbiological and Pharmacological Screening of Medical Plant*. Pedrosa C, et al. 1978. University of Santo Thomas. Phillipines.
- Duke, J.A., 2004, *Ethnobotanical Uses*, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland.
(<http://www.ars-grin.gov/duke>)
- Durmaz, H., Sagun, E., Tarakci, Z. and Ozgokce, F., 2006, *Antibacterial Activities of Allium vineale, Chaerophyllum macropodum and Prangos ferulacea*,

African Journal of Biotechnology Vol. 5 (19), pp. 1795-1798.

Durrance Rd., N.Ft. Myers, 1999. *Snake Gourd*, Echo Plant Information Sheet, USA.

(<http://www.echonet.org>)

Du, Z. Z., Zhu, N., and Shen, M., 2003, "Two Novel Antifungal Saponins from Tibetan Herbal Medicine *Clematis tangutica*", *Chinese Chemical Letters* Vol. 14, No. 7, pp 707-710.

Dwidjoseputro, D. 1978, *Pengantar Mikologi*, Edisi II, Penerbit Alumni, Bandung.

Fardiaz, S., 1992. *Mikrobiologi Pangan*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Fawe, A., Zaid, M. A., Menzies, J.G., and Belanger, R.R. 1998. "Silicon-Mediated Accumulation of Flavonoid Phytoalexins in Cucumber". *Phytopathology* 88 : 396-401.

Gopalakrishnan, G., Banumathi, B., and Suresh, G., 1997, "Evaluation of the Antifungal Activity of Natural Xanthenes from *Garcinia mangostana* and Their Synthetic Derivatives", Madras, India, *Journal Natural Product*, 60, 519-524.

Harborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan oleh J. B. Harborne*, terbitan ke-2, terjemahan dari *Phytochemical Method* oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung

Hargono, D., Farouq, Sutarno, S., Pramono, S., Rahayu, T. R., Tanuatmadja, U. S., Sumarsono. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta. Departemen Kesehatan RI.

Harliana, Dilla., 2006, *Aktivitas Antijamur Ekstrak Rimpang Temu Glenyeh*, Skripsi, Fakultas MIPA UNS, Surakarta, 16.

Hayani, E., 2007, *Pemisahan Komponen Rimpang Temu Kunci Secara Kromatografi Kolom*, Buletin Teknik Pertanian Vol. 12 No. 1, 2007

Ismail, A., Marjan, Z., Foong, C. 2004. "Total Antioxidant Activity and Phenolic Content in Selected Vegetables". *Food Chemistry*. Vol.87.581-586

Jawetz., G. Melnick, LL., Adelberg, E.A., 1986, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*, Edisi XVI, Diterjemahkan oleh dr. Bonang, G., EGC Press, Jakarta, 336-384.

Jawetz., G. Melnick, LL., Adelberg, E.A., 1995, *Mikrobiologi Kedokteran*,

terjemahan dari *Medical Microbiology* oleh Mudihardi, Kuntaman, Warsito, Mertaniasih, Harsono, dan Alimsardjono, Salemba Medika, Surabaya.

Jork, H., Funk, W. and Fisher, W., 1990, *Thin-Layer Chromatography: Reagents and Detection*, Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.

Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M. dan Kurniadi, B., 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya.

Kristinawati, Dwik., 2004, *Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Pare Belut (Trichosanthes anguina L.) Dalam Ekstrak Etanol*, Skripsi, Fakultas MIPA UNS, Surakarta, 5-7.

Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba Di Laboratorium*, Jakarta, PT Raja Grafindo Persada.

Lembaga Biologi Nasional-LIPI, 1980, *Sayur-sayuran*, PN Balai Pustaka, Jakarta

Lenny, S. 2006. *Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp*. USU Repository.
<http://library.usu.ac.id/download/fmipa/06000441.pdf>. diakses tanggal 6 Maret 2009.

Marliana, S. D., Suryanti, V., dan Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi* 3(1) : 26-31.

Nobre, C., Moura, F. 2005, "Standardization of Extracts from *Momordica Charantia* L. (Cucurbitaceae) by Total Flavonoids Content Determination". *Acta farm Bonaerense*. Vol. 24. 562-566.

Oliviera, C. M. M., Silva, M. R. R., Kato, L., Silva, C. C., Ferreira, H. D., and Souza, L. K. H., 2004, "Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae)", Brazil, *J. Braz. Chem. Soc.* Vol. 15, No. 5, 756-759.

Oluwaseun, A. A., Ganiyu, O. 2008. "Antioxidant Properties of Methanolic Extract of Mistletoes (*Viscum album*) from Cocoa and Cashew Trees in Nigeria". *African Journal of Biotechnology*. Vol 7. 3138-3142.

Padmawinata, K. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keenam. Bandung. ITB. Terjemahan : *The Organic Constituents of Higher Plants*. Robinson, T. 1991. Department of Biochemistry University of

Massachusetts Amherst.

- Padmawinata, K. dan Soediro, I. 1996. *Metode Fitokimia*. Bandung. ITB.
Terjemahan: *Phytochemical Methods*. Harborne, J.B. 1987. Chapman and Hall. New York.
- Pedrosa. C. *et al.*, 1978, *Acta Manilana Phytochemical, Microbiological and Pharmacological screening of Medical Plants*, University of Santo Thomas, Filipina.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. and Pelczar, M. F., 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Penerjemah: Hadioetomo, R. S. dkk, Jilid I, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pelezar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Penerjemah Ratna Siri hadioetomo, dkk. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Poither, J., 2000, *Natural Product/Thin Layer (Planar) Chromathography*, University of Tours, Academic Press, Tours.
- Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Rusdi. 1988. *Tetumbuhan sebagai Sumber Obat*. Padang. Pusat Penelitian Andalas.
- Salle, A.J., 1974. *Fundamentals Principles of Bacteriology*, Second Edition, Tata Mc Graw-Hill, New Delho, India.
- Sarimanah, J., 2000, *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak dan Hasil Fraksinasi Daun Pare (Momordia Charantia, L.) Terhadap Microsporum gypseum dan Trichophyton rubrum*, skripsi, Fakultas Farmasi USB, Surakarta, 58-59,61.
- Sastrahidayat, Ika Rochdjatun, 1990, *Ilmu Penyakit Tumbuhan*, Fakultas Pertanian UNBRAW, Surabaya.
- Setiawan, A. I., dan Y. Trisnawati, 1995, *Pare dan Labu*, PT Penebar Swadaya, Jakarta.
- Shanab B. A., Adwan, G., Jarrar, N., Hiljleh, A. A., Adwan, K. 2006. "Antibacterial Activity of Four Plant Extracts Used in Palestine in

- Folkloric Medicine against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*". *Turk J Biol* 30 (2006) 195-198.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kima Medisinal*. Surabaya. Universitas Airlangga Press.
- Sukandar, E.Y., Suwendar, dan Ekawati, E., 2006, *Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Seledri (Apium graveolens) dan daun urang aring (Eclipta prostrata (L.)L.) terhadap Pityrosporum ovale*, Majalah Farmasi Indonesia.
- Sunarti, Sri., 2005, *Uji Aktivitas Antijamur Salep Ekstrak Daun Pare (Monordia Charantia L.) Terhadap Jamur Candida Albicans*, Skripsi, Fakultas Farmasi USB, Surakarta, 11-12.
- Swamy and Jayaveera. 2007. *Antimicrobial Properties of Momordica cynbalaria Hook.F*. *Pharmacologyonline* 31 505-510
- Swantara, I. M. D. , 2005, *Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dalam Tumbuhan Kentut-kentut (Paederia foetida Auct.)*, J. Alchemy, Vol. 4, No. 2 (September 2005), 54-65.
- Tjay, T.H. Rahardja. K. 1978. *Obat-obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya..* Edisi kelima, Jakarta. PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia
- Tjitrosoepomo, G.1989, *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Tortera, Gerard J., Berdel R. Funke, Christine L. Case, 1995, *Microbiology and Introduction*, fifth edition, The Benjamin/Cummings Publishing Company, California.
- Utami, S.C. 2007. *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanolik Herba Jombang (Taraxacum officinale, Webber et Wigger) terhadap Jamur Candida albicans ATCC 10231 dan Tricophyton rebrum ATCC 28191*. Surakarta Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi.
- Vibrianti, Y. 2005. *Identifikasi dan Isolasi Fraksi Aktif Antijamur dalam Rimpang Temu Tis (Curcuma purpurascens BL.)*. Surakarta. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas MIPA. Universitas Sebelas Maret.
- Wagner, H. 1983. *Plant Drug Analysis*. Germany. Springer-Verlag Berlin.
- Wagner, H. 1984. *Plant Drug Analysis*. Springer-Verlag. Berlin.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Malang Press.

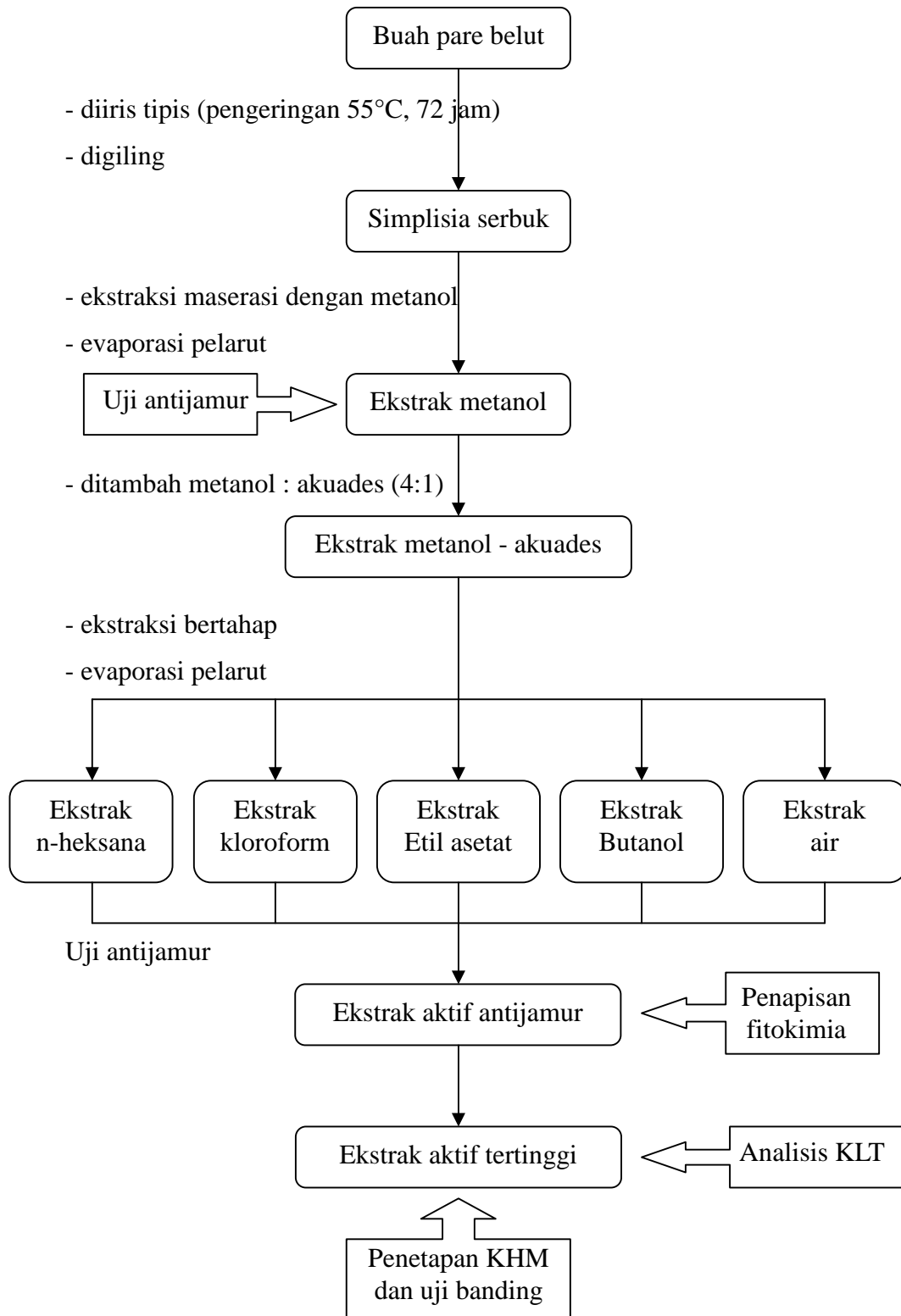
Webster, J., 1980. *Introduction to Fungi*, Second Edition, Cambridge University Press, USA.

<http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/andrie-wicaksana-078114042.pdf>, diakses 13 nopember 2008.

<http://www.medical-library.net/content/view/226/41/>, Pengambilan data: 23 Januari 2009

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Cara Kerja Penelitian





**UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI**

LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN

Jl. Teknik Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281, Telp. (0274) 6492272/6492262; Fax: (0274) 580839

SURAT KETERANGAN

Nomer : 0105 / T.Tb. / IV / 2009

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :

Nama	: A. Rizal Permana	NIM: M0304017
	Retno Candra Dewi	NIM: M0304059
	Yuana Rikha M.	NIM: M0304074
Jurusan	: KIMIA	
Fakultas	: MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta	

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut :

Familia	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Trichosanthes</i>
Species	: <i>Trichosanthes anguina</i> L.
Nama Daerah	: Pare Ulo, Pare Welut

identifikasi tersebut dibantu oleh Dra. Slamet Sutanti Budi Rahayu, M.Sc
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan
seperlunya.

Yogyakarta, 15 April 2009

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada



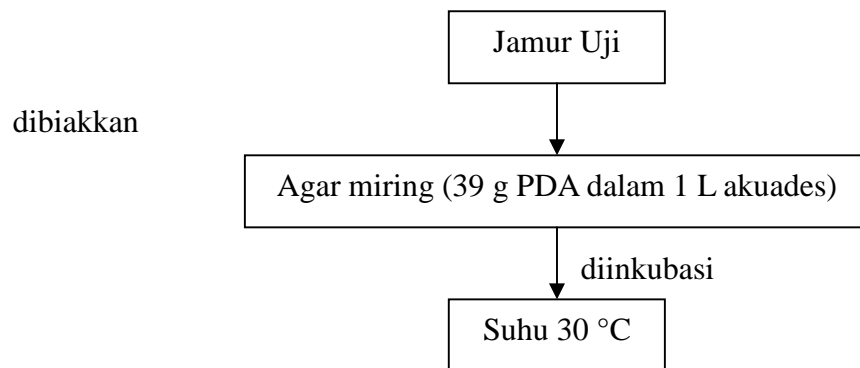
Dr. Retno Peni Sancayaningsih, M. Sc.
NIP. 131 122 837

Kepala Laboratorium
Taksonomi Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM

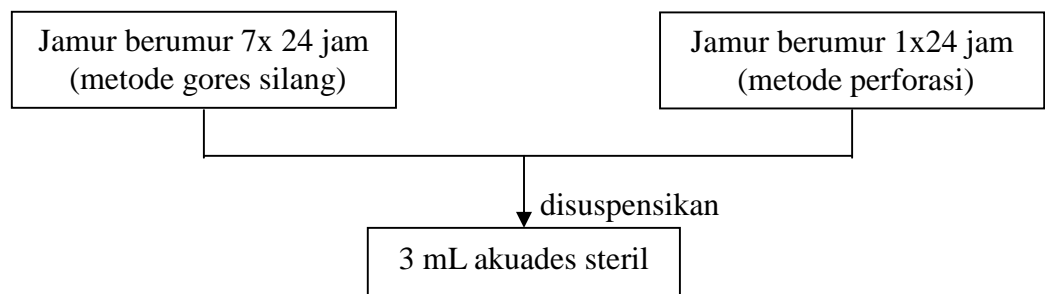
Dr. Rina Sri Kasiamdari
NIP. 132 086 688

Lampiran 3. Bagan Cara Kerja Pengujian Antijamur

- Penyediaan Jamur Uji

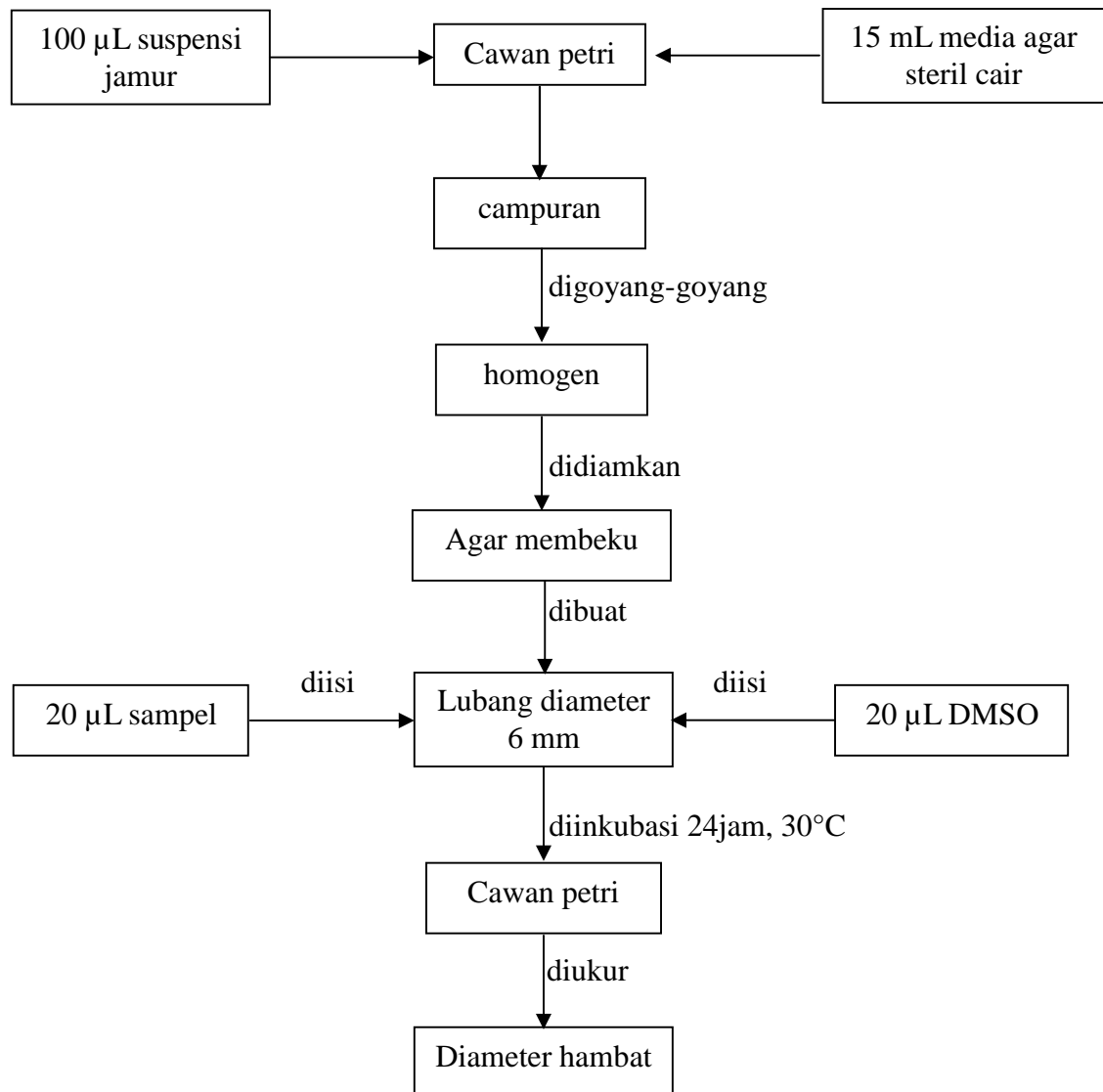


- Penyediaan Suspensi Jamur Uji

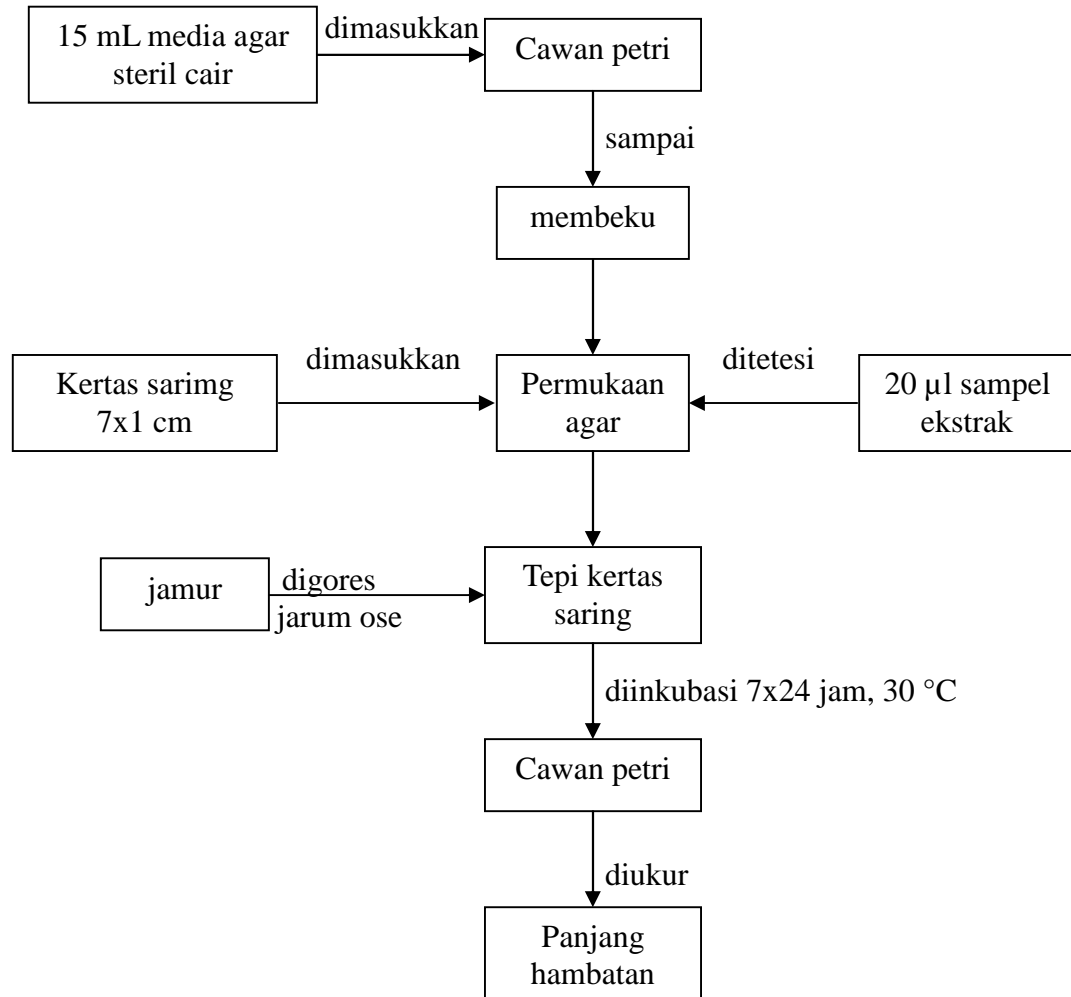


- Pengujian Aktivitas Antijamur

1. Metode Perforasi



2. Metode Gores Silang



Lampiran 4. Perhitungan Konversi Satuan dalam Pembuatan Sampel

Contoh perhitungan :

1. Sampel untuk uji aktivitas antijamur ekstrak metanol, KHM ekstrak kloroform, dan KHM mikonazol dengan metode lubang (20 μ l untuk tiap lubang)

Misal : konsentrasi sampel $2,5 \cdot 10^5$ ppm

$$2,5 \cdot 10^5 \text{ ppm} = 2,5 \cdot 10^5 \text{ mg/l} = 5 \text{ mg}/2 \cdot 10^{-5} \text{ l} = 0,005 \text{ g}/20 \mu\text{l}$$

2. Sampel untuk uji aktivitas antijamur ekstrak metanol dengan metode gores silang (50 μ l untuk tiap cawan petri)

Misal : konsentrasi $2,5 \cdot 10^5$ ppm

$$2,5 \cdot 10^5 \text{ ppm} = 2,5 \cdot 10^5 \text{ mg/l} = 12,5 \text{ mg}/5 \cdot 10^{-5} \text{ l} = 0,0125 \text{ g}/50 \mu\text{l}$$

Tabel berikut merupakan data hasil perhitungan konversi satuan dalam pembuatan sampel uji aktivitas antijamur ekstrak metanol.

Konsentrasi (ppm)	Konversi	
	mg/lubang	mg/cawan petri
$2,5 \cdot 10^5$	5	12,5
$5 \cdot 10^5$	10	25
$7,5 \cdot 10^5$	15	37,5
$1 \cdot 10^6$	20	50

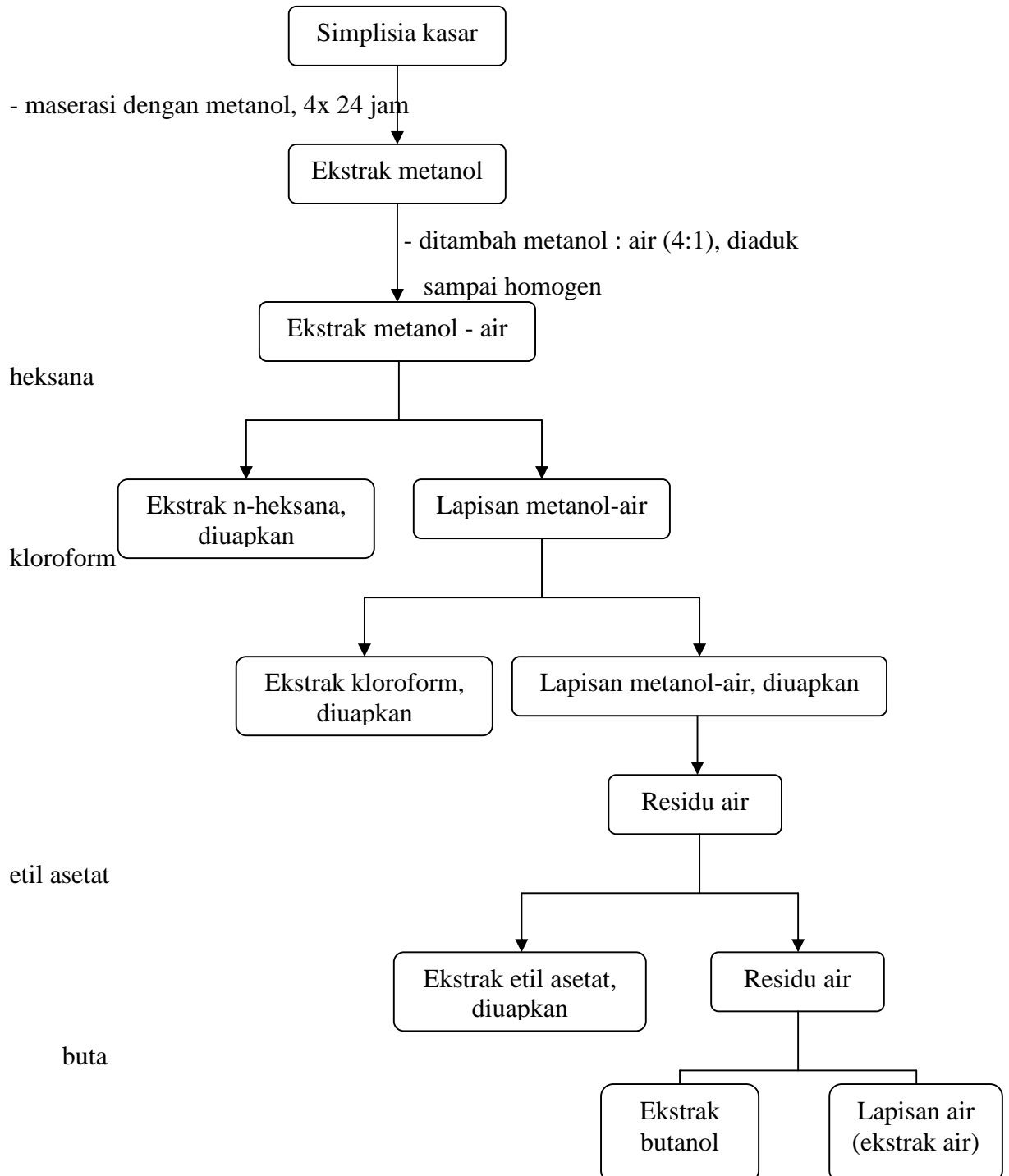
Tabel berikut merupakan data hasil perhitungan konversi satuan dalam pembuatan sampel uji KHM ekstrak kloroform.

Konsentrasi (ppm)	Konversi (mg/lubang)
2.10^5	4
1.10^5	2
5.10^4	1
$2,5.10^4$	0,5
$1,25.10^4$	0,25
$6,25.10^3$	0,125
$3,125.10^3$	0,0625

Tabel berikut merupakan data hasil perhitungan konversi satuan dalam pembuatan sampel uji KHM mikonazol.

Konsentrasi (ppm)	Konversi (mg/lubang)
200	4.10^{-3}
100	2.10^{-3}
80	$1,6.10^{-3}$
60	$1,2.10^{-3}$
50	1.10^{-3}
40	8.10^{-4}
30	6.10^{-4}
20	4.10^{-4}
10	2.10^{-4}

Lampiran 5. Bagan Ekstraksi Buah Pare Belut dengan Berbagai Pelarut



Lampiran 6. Prosedur Pembuatan Reagen

FeCl_3 1%: FeCl_3 sebanyak 1 g dilarutkan dalam 100 ml aquades

Larutan gelatin : Gelatin sebanyak 1 g dilarutkan ke dalam 100 ml aquades panas sambil diaduk

NaCl 10%: NaCl sebanyak 10 g dilarutkan ke dalam 100 ml aquades

AlCl_3 1% : AlCl_3 sebanyak 0,1 g dilarutkan ke dalam 10 ml etanol 95%

Penyemprot: (i) 5% H_2SO_4 dalam etanol

Vanilin- H_2SO_4 (ii) 1% vanilin dalam etanol
Plat disemprot larutan (i), (ii), kemudian dipanaskan 100°C selama 10 menit

Pereaksi Wagner : KI sebanyak 2 g dan iodine sebanyak 1,27 g dilarutkan ke dalam aquades sampai volume 100 ml, kemudian disimpan dalam botol gelap

Pereaksi SbCl_3 : Serbuk SbCl_3 sebanyak 2 g dilarutkan ke dalam 10 ml kloroform

Pereaksi Dragendorff : Bismuth nitrat sebanyak 0,85 g dilarutkan dalam 40 mL air dan 10 mL asam asetat glasial, kemudian ke dalam larutan tersebut ditambahkan 8 g KI yang dilarutkan dalam 20 mL air

Lampiran 7. Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia awal}} \times 100\%$$

Berat simplisia awal

$$= \frac{204,409 \text{ gram}}{1001,551 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 20,409\%$$

$$= 20,409\%$$

Keterangan : Berat simplisia awal yang dimaserasi = 1001,551 gram

Berat ekstrak kental metanol yang diperoleh = 204,409 gram

Lampiran 8. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol

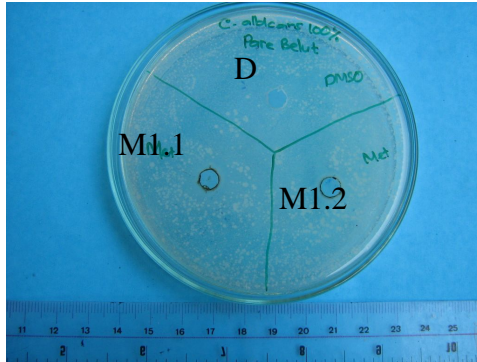
Tabel data diameter hambat ekstrak metanol buah pare belut terhadap *C. albicans*

Konsentrasi (mg/lubang)	Diameter Hambat (mm)		Keterangan
	X1	X2	
5	11,12	10,95	Lampiran 9, Gambar a4
10	12,31	12,19	Lampiran 9, Gambar a3
15	12,28	12,61	Lampiran 9, Gambar a2
20	14,31	13,72	Lampiran 9, Gambar a1

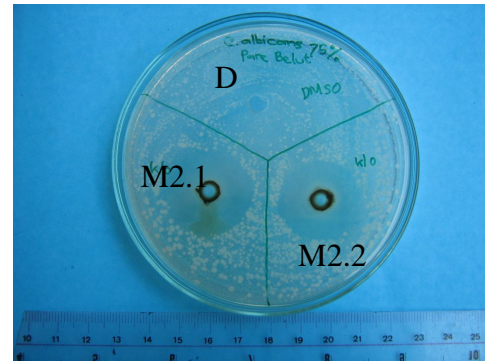
Keterangan : Diameter lubang = 6 mm

X1, X2 = diameter hambat pada lubang ke-1 dan 2

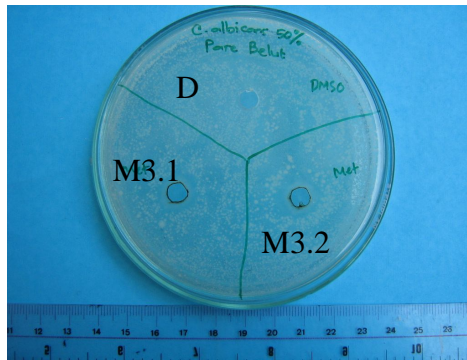
Lampiran 9.Foto Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Pare Belut Terhadap *C. albicans*



Gb.a2



Gb.a1



Gb. a4



Gb. a3

Keterangan : Daerah diameter hambat ekstrak metanol buah pare belut terhadap *C. albicans*

Gb. a1 : M1.1=M1.2= Konsentrasi sampel 20 mg/lubang

Gb. a2 : M2.1=M2.2= Konsentrasi sampel 15 mg/lubang

Gb.a3 : M3.1=M3.2= Konsentrasi sampel 10 mg/lubang

Gb.a4: M4.1=M4.2= Konsentrasi sampel 5mg/lubang

D= Kontrol negatif (DMSO)

Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Pare Belut Terhadap *M. gypseum*, *A. niger*, dan *Tricophyton sp.*



Gb. b1



Gb. b2



Keterangan : Daerah p... lut terhadap *M.*
gypseum, ... si sampel 20
 mg/luban

Gb. b1= Daerah panjang ... rhadap *A.*
niger

Gb. b2 = Daerah panjang hambat ekstrak metanol buah pare belut terhadap *M.*
gypseum

Gb. b3 = Daerah panjang hambat ekstrak metanol buah pare belut terhadap
Tricophyton sp.

Lampiran 10. Perhitungan Statistik Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak

Metanol

Tabel data yang dimasukkan pada uji statistik aktivitas antijamur ekstrak metanol variasi konsentrasi.

	Name	Type	Width	Decimals	Label	Values	Missing	Column	Align	Measure
1	<i>C. albicans</i>	Numeric	15	0	Diameter hambatan	None	None	9	Right	Scale
2	Konsentrasi	Numeric	8	4	None	None	None	8	Right	Scale

<i>C. albica</i>	Konsentrasi
11,12	5 mg/lubang
10,95	5 mg/lubang
12,31	10 mg/lubang
12,19	10 mg/lubang
12,28	15 mg/lubang
12,61	15 mg/lubang
14,31	20 mg/lubang
13,72	20 mg/lubang

Keterangan :

Variabel tergantung/dependent : Diameter hambatan

Variabel bebas/independent : Konsentrasi

Dari data diameter hambatan dapat ditentukan pengaruh variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Oneway ekstrak metanol

Descriptives

diameter hambatan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5 mg/lubang	2	11.0350	.12021	.08500	9.9550	12.1150	10.95	11.12
10 mg/lubang	2	12.2500	.08485	.06000	11.4876	13.0124	12.19	12.31
15 mg/lubang	2	12.4450	.23335	.16500	10.3485	14.5415	12.28	12.61
20 mg/lubang	2	14.0150	.41719	.29500	10.2667	17.7633	13.72	14.31
Total	8	12.4363	1.14839	.40602	11.4762	13.3963	10.95	14.31

ANOVA

diameter hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.981	3	2.994	47.872	.001
Within Groups	.250	4	.063		
Total	9.232	7			

Hasil uji lanjutan (LSD)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter hambatan

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5 mg/lubang	10 mg/lubang	-1.21500*	.25007	.008	-1.9093	-.5207
	15 mg/lubang	-1.41000*	.25007	.005	-2.1043	-.7157
	20 mg/lubang	-2.98000*	.25007	.000	-3.6743	-2.2857
10 mg/lubang	5 mg/lubang	1.21500*	.25007	.008	.5207	1.9093
	15 mg/lubang	-.19500	.25007	.479	-.8893	.4993
	20 mg/lubang	-1.76500*	.25007	.002	-2.4593	-1.0707
15 mg/lubang	5 mg/lubang	1.41000*	.25007	.005	.7157	2.1043
	10 mg/lubang	.19500	.25007	.479	-.4993	.8893
	20 mg/lubang	-1.57000*	.25007	.003	-2.2643	-.8757
20 mg/lubang	5 mg/lubang	2.98000*	.25007	.000	2.2857	3.6743
	10 mg/lubang	1.76500*	.25007	.002	1.0707	2.4593
	15 mg/lubang	1.57000*	.25007	.003	.8757	2.2643

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel data yang dimasukkan pada uji statistik aktivitas antijamur ekstrak metanol variasi jamur.

	Name	Type	Width	Decimals	Label	Values	Missing	Column	Align	Measure
1	dh5	Numeric	8	4	None	None	None	8	Right	Scale
2	Jamur	String	15	0	None	None	None	9	Right	Nominal
3	dh10	Numeric	8	4	None	None	None	8	Right	Scale
4	dh15	Numeric	8	4	None	None	None	8	Right	Scale
5	dh20	Numeric	8	4	None	None	None	8	Right	Scale

Keterangan :

Variabel tergantung/dependent : Ekstrak metanol

Variabel bebas/independent : Jamur

dh5	dh10	dh15	dh20	jamur
11,12	12,31	12,28	14,31	<i>C. albicans</i>
10,95	12,19	12,61	13,72	<i>C. albicans</i>
6,00	6,00	6,00	6,00	<i>A. niger</i>
6,00	6,00	6,00	6,00	<i>A. niger</i>
6,00	6,00	6,00	6,00	<i>Tricophyton sp</i>
6,00	6,00	6,00	6,00	<i>Tricophyton sp</i>
6,00	6,00	6,00	6,00	<i>M. gypseum</i>
6,00	6,00	6,00	6,00	<i>M. gypseum</i>

Dari data panjang daerah hambatan pada Tabel 3 dapat ditentukan pengaruh variasi jamur pada masing-masing konsentrasi.
Oneway ekstrak metanol

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak metanol 5mg/lubang	c. albicans	2	11.0350	.12021	.08500	9.9550	12.1150	10.95	11.12
	a. niger	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	m. gypseum	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	tricophyton sp	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	8	7.2588	2.33119	.82420	5.3098	9.2077	6.00	11.12
ekstrak metanol 10mg/lubang	c. albicans	2	12.2500	.08485	.06000	11.4876	13.0124	12.19	12.31
	a. niger	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	m. gypseum	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	tricophyton sp	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	8	7.5625	2.89337	1.02296	5.1436	9.9814	6.00	12.31
ekstrak metanol 15mg/lubang	c. albicans	2	12.4450	.23335	.16500	10.3485	14.5415	12.28	12.61
	a. niger	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	m. gypseum	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	tricophyton sp	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	8	7.6113	2.98476	1.05527	5.1159	10.1066	6.00	12.61
ekstrak metanol 20mg/lubang	c. albicans	2	14.0150	.41719	.29500	10.2667	17.7633	13.72	14.31
	a. niger	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	m. gypseum	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	tricophyton sp	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	8	8.0038	3.71357	1.31295	4.8991	11.1084	6.00	14.31

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ekstrak metanol 5mg/lubang	Between Groups	38.027	3	12.676	3508.820	.000
	Within Groups	.014	4	.004		
	Total	38.041	7			
ekstrak metanol 10mg/lubang	Between Groups	58.594	3	19.531	10850.694	.000
	Within Groups	.007	4	.002		
	Total	58.601	7			
ekstrak metanol 15mg/lubang	Between Groups	62.307	3	20.769	1525.731	.000
	Within Groups	.054	4	.014		
	Total	62.361	7			
ekstrak metanol 20mg/lubang	Between Groups	96.360	3	32.120	738.181	.000
	Within Groups	.174	4	.044		
	Total	96.534	7			

Hasil uji lanjutan (LSD)
Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) jamur	(J) jamur	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
ekstrak metanol 5mg/lubang	c. albicans	a. niger	5.03500*	.06010	.000	4.8681	5.2019
		m. gypseum	5.03500*	.06010	.000	4.8681	5.2019
		trichophyton sp	5.03500*	.06010	.000	4.8681	5.2019
	a. niger	c. albicans	-5.03500*	.06010	.000	-5.2019	-4.8681
		m. gypseum	.00000	.06010	1.000	-.1669	.1669
		trichophyton sp	.00000	.06010	1.000	-.1669	.1669
	m. gypseum	c. albicans	-5.03500*	.06010	.000	-5.2019	-4.8681
		a. niger	.00000	.06010	1.000	-.1669	.1669
		trichophyton sp	.00000	.06010	1.000	-.1669	.1669
	trichophyton sp	c. albicans	-5.03500*	.06010	.000	-5.2019	-4.8681
		a. niger	.00000	.06010	1.000	-.1669	.1669
		m. gypseum	.00000	.06010	1.000	-.1669	.1669
ekstrak metanol 10mg/lubang	c. albicans	a. niger	6.25000*	.04243	.000	6.1322	6.3678
		m. gypseum	6.25000*	.04243	.000	6.1322	6.3678
		trichophyton sp	6.25000*	.04243	.000	6.1322	6.3678
	a. niger	c. albicans	-6.25000*	.04243	.000	-6.3678	-6.1322
		m. gypseum	.00000	.04243	1.000	-.1178	.1178
		trichophyton sp	.00000	.04243	1.000	-.1178	.1178
	m. gypseum	c. albicans	-6.25000*	.04243	.000	-6.3678	-6.1322
		a. niger	.00000	.04243	1.000	-.1178	.1178
		trichophyton sp	.00000	.04243	1.000	-.1178	.1178
	trichophyton sp	c. albicans	-6.25000*	.04243	.000	-6.3678	-6.1322
		a. niger	.00000	.04243	1.000	-.1178	.1178
		m. gypseum	.00000	.04243	1.000	-.1178	.1178
ekstrak metanol 15mg/lubang	c. albicans	a. niger	6.44500*	.11667	.000	6.1211	6.7689
		m. gypseum	6.44500*	.11667	.000	6.1211	6.7689
		trichophyton sp	6.44500*	.11667	.000	6.1211	6.7689
	a. niger	c. albicans	-6.44500*	.11667	.000	-6.7689	-6.1211
		m. gypseum	.00000	.11667	1.000	-.3239	.3239
		trichophyton sp	.00000	.11667	1.000	-.3239	.3239
	m. gypseum	c. albicans	-6.44500*	.11667	.000	-6.7689	-6.1211
		a. niger	.00000	.11667	1.000	-.3239	.3239
		trichophyton sp	.00000	.11667	1.000	-.3239	.3239
	trichophyton sp	c. albicans	-6.44500*	.11667	.000	-6.7689	-6.1211
		a. niger	.00000	.11667	1.000	-.3239	.3239
		m. gypseum	.00000	.11667	1.000	-.3239	.3239
ekstrak metanol 20mg/lubang	c. albicans	a. niger	8.01500*	.20860	.000	7.4358	8.5942
		m. gypseum	8.01500*	.20860	.000	7.4358	8.5942
		trichophyton sp	8.01500*	.20860	.000	7.4358	8.5942
	a. niger	c. albicans	-8.01500*	.20860	.000	-8.5942	-7.4358
		m. gypseum	.00000	.20860	1.000	-.5792	.5792
		trichophyton sp	.00000	.20860	1.000	-.5792	.5792
	m. gypseum	c. albicans	-8.01500*	.20860	.000	-8.5942	-7.4358
		a. niger	.00000	.20860	1.000	-.5792	.5792
		trichophyton sp	.00000	.20860	1.000	-.5792	.5792
	trichophyton sp	c. albicans	-8.01500*	.20860	.000	-8.5942	-7.4358
		a. niger	.00000	.20860	1.000	-.5792	.5792
		m. gypseum	.00000	.20860	1.000	-.5792	.5792

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 11. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak-Ekstrak Buah Pare
belut

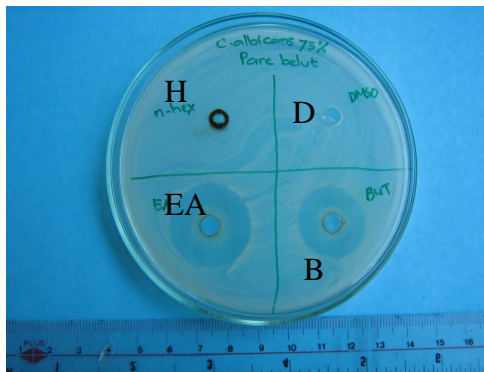
Tabel data diameter daerah hambat ekstrak-ekstrak pare belut
terhadap *C. albicans*

Ekstrak (15 mg/lubang)	Diameter Hambat (mm)		Keterangan
	X1	X2	
Heksana	6,00	6,00	Lampiran 12, Gambar c1, h
Kloroform	24,16	25,80	Lampiran 12, Gambar c2, k
Etil asetat	22,48	23,18	Lampiran 12, Gambar c1, ea
Butanol	16,95	18,79	Lampiran 12, Gambar c1, b
Air	6,00	6,00	Lampiran 12, Gambar c2, a

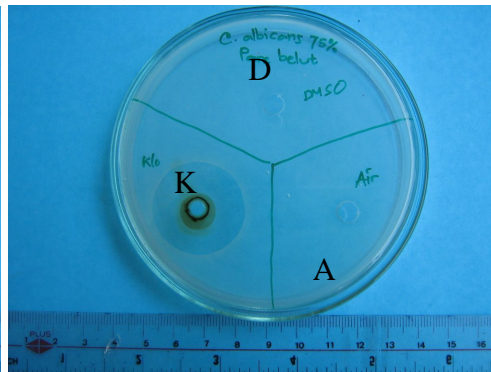
Keterangan : Diameter lubang = 6 mm

X1, X2 = diameter hambat pada lubang ke-1 dan 2

Lampiran12. Foto Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Hasil Ekstraksi Bertahap



Gb. c1



Gb. c2

Keterangan : Daerah diameter hambat ekstrak hasil ekstraksi bertingkat buah pare belut terhadap *C. albicans* pada konsentrasi sampel 15 mg/lubang

Gb. c1 : H =Ekstrak Heksana

EA= Ekstrak Etil asetat

B = Ekstrak Butanol

Gb. c2 : K= Ekstrak Kloroform

A= Ekstrak Air

D= Kontrol negatif (DMSO)

Lampiran 13. Perhitungan Statistik Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak- Ekstrak Pare belut

Tabel data yang dimasukkan pada uji statistik aktivitas antijamur ekstrak-ekstrak hasil ekstraksi bertingkat.

	Name	Type	Width	Decimals	Label	Values	Missing	Column	Align	Measure
1	C. albica	Numeric	8	4	Diameter hambat	None	None	8	Right	Scale
2	Ekstrk 15	String	15	0	None	None	None	9	Right	Nominal

Keterangan :

Variabel tergantung/dependent : Diameter hambat

Variabel bebas/independent : Ekstrk15

Ekstrk15	Diameter hambat
Heksana	6,00
Heksana	6,00
Kloroform	24,16
Kloroform	25,80
Etil asetat	22,48
Etil asetat	23,18
Butanol	16,95
Butanol	18,79
Air	6,00
Air	6,00

Dari data diameter daerah hambat ekstrak-ekstrak pare belut terhadap *C. albicans* dapat dianalisis pengaruh antar ekstrak terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
Oneway ekstrak-ekstrak buah gambas hasil ekstraksi bertingkat

Descriptives

diameter hambat ekstrak 15 mg/lubang

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
heksana	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kloroform	2	24.9800	1.15966	.82000	14.5609	35.3991	24.16	25.80
etilasetat	2	22.8300	.49497	.35000	18.3828	27.2772	22.48	23.18
butanol	2	17.8700	1.30108	.92000	6.1803	29.5597	16.95	18.79
air	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	10	15.5360	8.58100	2.71355	9.3975	21.6745	6.00	25.80

ANOVA

diameter hambat ekstrak 15 mg/lubang

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	659.419	4	164.855	251.104	.000
Within Groups	3.283	5	.657		
Total	662.702	9			

Hasil uji lanjutan (LSD)
Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter hambat ekstrak 15 mg/lubang
LSD

(I) ekstrak	(J) ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
heksana	kloroform	-18.98000*	.81026	.000	-21.0628	-16.8972
	etilasetat	-16.83000*	.81026	.000	-18.9128	-14.7472
	butanol	-11.87000*	.81026	.000	-13.9528	-9.7872
	air	.00000	.81026	1.000	-2.0828	2.0828
kloroform	heksana	18.98000*	.81026	.000	16.8972	21.0628
	etilasetat	2.15000*	.81026	.045	.0672	4.2328
	butanol	7.11000*	.81026	.000	5.0272	9.1928
	air	18.98000*	.81026	.000	16.8972	21.0628
etilasetat	heksana	16.83000*	.81026	.000	14.7472	18.9128
	kloroform	-2.15000*	.81026	.045	-4.2328	-.0672
	butanol	4.96000*	.81026	.002	2.8772	7.0428
	air	16.83000*	.81026	.000	14.7472	18.9128
butanol	heksana	11.87000*	.81026	.000	9.7872	13.9528
	kloroform	-7.11000*	.81026	.000	-9.1928	-5.0272
	etilasetat	-4.96000*	.81026	.002	-7.0428	-2.8772
	air	11.87000*	.81026	.000	9.7872	13.9528
air	heksana	.00000	.81026	1.000	-2.0828	2.0828
	kloroform	-18.98000*	.81026	.000	-21.0628	-16.8972
	etilasetat	-16.83000*	.81026	.000	-18.9128	-14.7472
	butanol	-11.87000*	.81026	.000	-13.9528	-9.7872

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 14. Hasil Penapisan Fitokimia Terhadap Ekstrak Pare Belut

Test yang Dilakukan	Perubahan Berdasarkan Teori	Perubahan yang Terjadi pada Waktu Pengujian				
		Ekstrak Metanol	Ekstrak Heksana	Ekstrak Kloroform	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Benzena
Test Wagner	Terjadi Endapan	Endapan (+)	(-)	Endapan (+)	-	Endapan (+)
Test FeCl ₃	Terjadi perubahan warna menjadi merah ungu, biru/hitam	Hijau kecoklatan (+)	(-)	Hijau (+)	Hijau tua (+)	Coklat kehitaman
Test busa	Terbentuk busa yang stabil selama ± 30 menit	Terbentuk busa stabil (+)	(-)	-	(-)	Terbentuk busa (+)
Test FeCl ₃	Terjadi perubahan warna menjadi biru kehitaman (tanin terhidrolisa), hijau kecoklatan (tanin terkondensasi), selain warna tersebut (polifenol)	Hijau kecoklatan (+)	(-)	Hijau (+)	Hijau (+)	Biru kehitaman
Test Gelatin	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan (+)		Terbentuk endapan (+)	Terbentuk endapan (+)	Terbentuk endapan (+)
Test HCl dan dipanaskan	Perubahan warna menjadi merah kuat/violet/ungu	Ungu (+)	(-)	Ungu tua (+)	Merah hati (+)	Merah tua
Test Vanilin-H ₂ SO ₄	Terjadi perubahan warna ungu	ungu (+)	(-)	ungu (+)	(-)	Ungu tua

Keterangan : (-) = tidak ada perubahan, (+) terjadi perubahan atau positif senyawa uji

Lampiran 15. Tabel Hasil KLT Ekstrak Kloroform

Dari hasil pengujian KLT setelah penyemprotan reagen spesifik didapatkan sejumlah noda dengan nilai Rf dan warna tertentu yang diamati dibawah sinar tampak dan UV 365 nm. Penampakan sejumlah noda dicocokkan warnanya dengan dasar teori dan hasil pengamatan KLT sebagai berikut:

Reagen yang disemprotkan dan senyawa yang diuji	Hasil Pengamatan Plat KLT					
	Sinar Tampak			Sinar UV 365 nm		
	Rf	Warna	Ket	Rf	Warna	Ket
Tanpa Reagen	0,04	Hijau muda	-	0,02	Coklat	-
	0,06 0,02	Hijau coklat	-			
	0,22 0,4	Hijau kekuningan	- -			
AlCl ₃ (Flavonoid)	0,06	Hijau kekuningan	-	0,02 0,28 0,38	Coklat	-
	0,02	Coklat	-	0,08	Coklat muda	-
	0,08	Hijau	-	0,1	Coklat tua	-
	0,36 0,4	Kekuningan	+	0,44	Biru terang	-
Dragendorf (Alkaloid)	0,04	Coklat	-	0,02	Coklat	-
	0,07	Coklat kemerahan	+	0,08	Coklat kemerahan	+
	0,08	Coklat kehijauan	-	0,12	Hijau	-
	0,1	Kekuningan	-			
	0,14	Hijau	-			
	0,18 0,36 0,5	Hijau kehitaman	-			
FeCl ₃ (Tanin dan Fenolat)	0,02	Coklat	-	0,02	Coklat	-
	0,04	Coklat muda	-	0,18 0,06	Kecoklatan	-
	0,08	Hijau muda	-	0,8	hijau	+
	0,09	Hijau	+			
	0,1	Kehijauan	-			
	0,14 0,18	Kecoklatan	-			
Terpenoid	0,04	Coklat	-	0,06	Coklat muda	-
	0,08	Coklat muda	-	0,1	Coklat kehijauan	-
	0,09	Ungu	+	0,14	Ungu	+
	0,16	Ungu kecoklatan	-	0,18	Coklat kemerahan	-
	0,22	Kecoklatan	-	0,2	Biru terang	-
	0,3 0,42	Hijau kecoklatan	-	0,28 0,4	Kemerahan	-

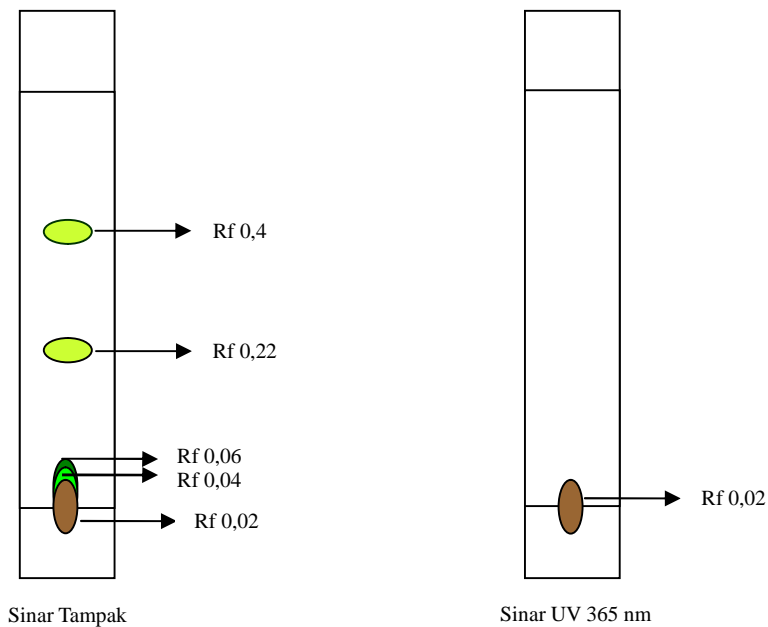
Keterangan: Rf : Retardation factor (+): Positif senyawa uji

(-) : Negatif senyawa uji

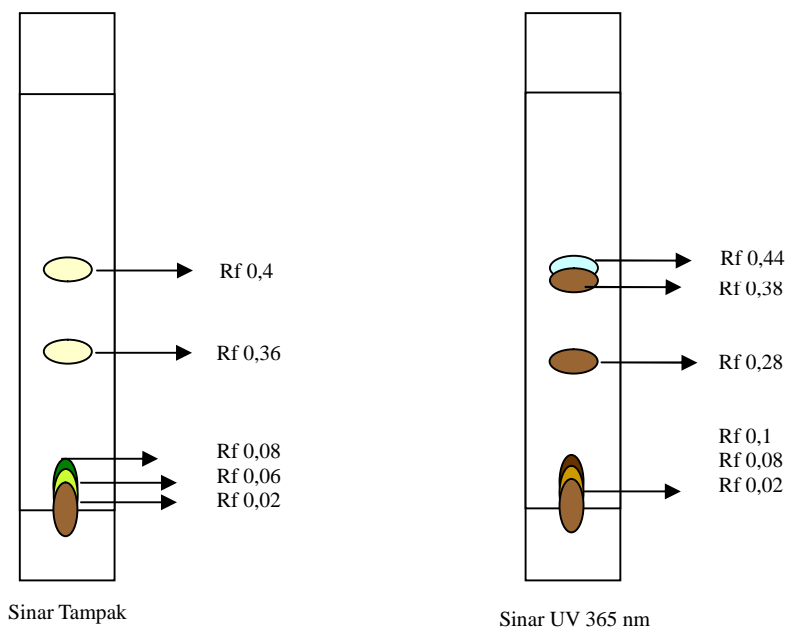
Lampiran 16. Gambar dan Foto Hasil Uji KLT Ekstrak Kloroform Pare Belut

1. Gambar Ilustrasi Hasil Uji KLT Ekstrak Kloroform Pare Belut

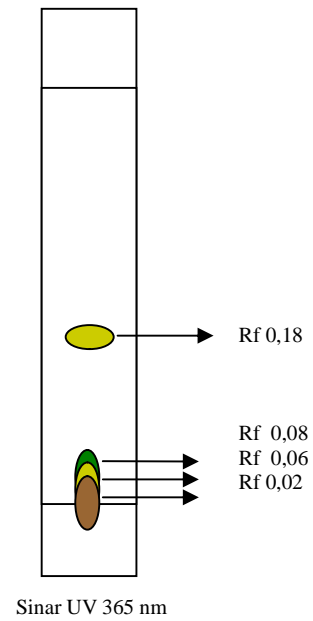
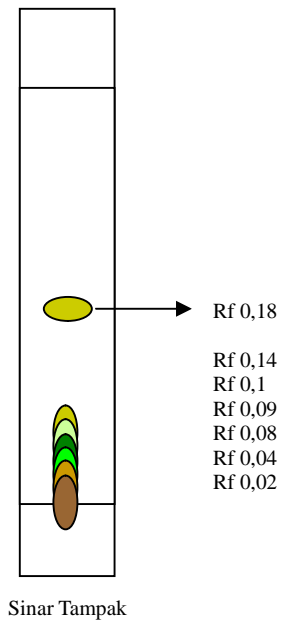
- a. Gambar ilustrasi hasil KLT dengan Pengembang Heksana : Kloroform = 1 : 1 sebelum disemprot.
Fase diam = Silika F₂₅₄



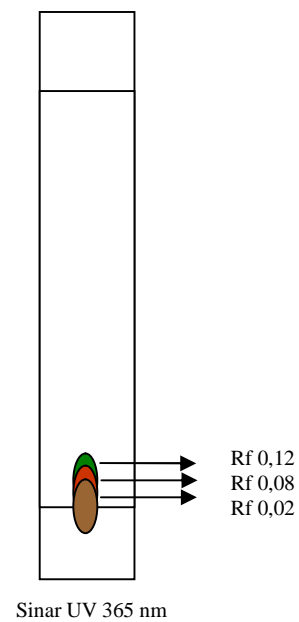
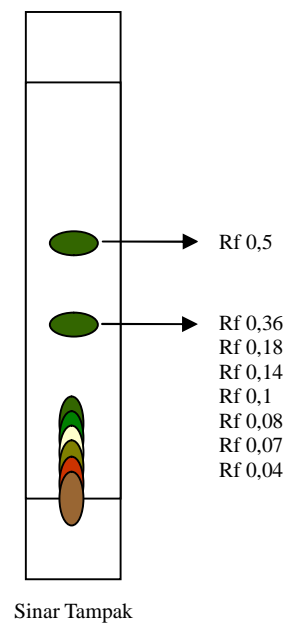
b. Gambar ilustrasi hasil uji KLT senyawa flavonoid (Plat setelah disemprot AlCl_3)



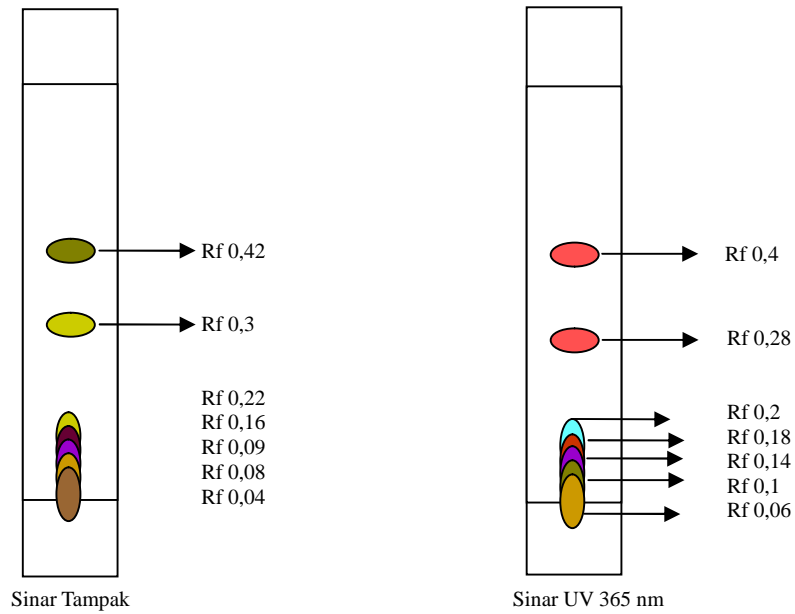
c. Gambar ilustrasi hasil uji KLT senyawa Tanin dan Fenolat (Plat setelah disemprot FeCl_3)



d. Gambar hasil uji KLT senyawa Alkaloid (Plat setelah disemprot dragendorf)



e. Gambar hasil uji KLT senyawa Terpenoid (Plat setelah disemprot Vanilin- H_2SO_4)

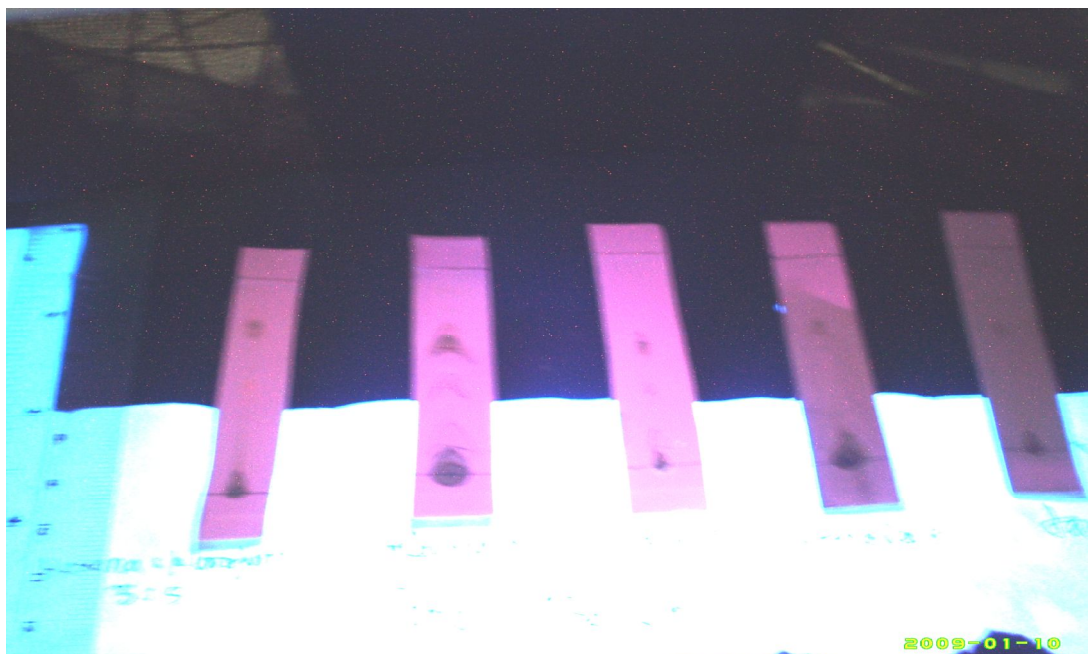


2. Foto Hasil Uji KLT **Ekstrak Kloroform Pare Belut**

a. Foto hasil KLT dengan Pengembang Heksana : Kloroform = 1 : 1 sebelum disemprot



b. Fotohasil KLT dengan Pengembang Heksana : Kloroform = 1 : 1 setelah disemprot



Lampiran 17. Hasil Pengujian KHM Ekstrak Kloroform

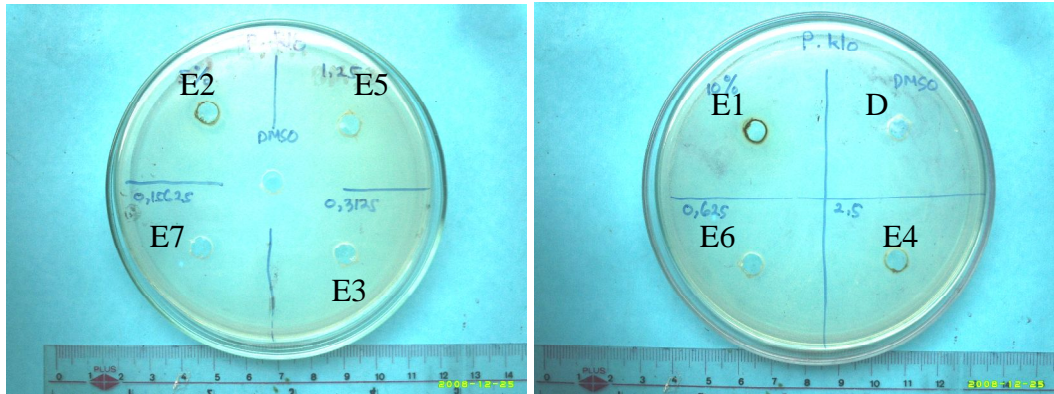
Data Diameter Hambat Uji KHM Ekstrak Kloroform terhadap Jamur *C. albicans*

Konsentrasi (mg/mL)	Diameter Hambat (mm)		
	<i>C. albicans</i>		
	χ_1	χ_2	$\chi \pm \sigma_{n-1}$
100	10,40	10,82	$10,61 \pm 0,297$
50	9,76	9,60	$9,68 \pm 0,113$
25	8,73	8,88	$8,805 \pm 0,106$
12,5	8,05	8,10	$8,075 \pm 0,035$
6,25	6,36	6,26	$6,31 \pm 0,071$
3,125	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$

Keterangan : Diameter lubang = 6 mm

χ_1, χ_2 = diameter hambat pada lubang ke-1 dan 2

Lampiran 18. Foto Hasil Pengujian KHM Ekstrak Kloroform



Gb. d1

Gb. d2

Keterangan : Daerah diameter hambat hasil uji KHM ekstrak kloroform buah
pare belut terhadap *C. albicans*

- Gb. d1 : E2= konsentrasi 50 mg/ml
E3= konsentrasi 12,5 mg/ml
E5= konsentrasi 1,5625 mg/ml
E7= konsentrasi 3,125 mg/ml
Gb. d2 : E1= konsentrasi 100 mg/ml
E4= konsentrasi 25 mg/ml
E6= konsentrasi 6,25 mg/ml
D= Kontrol negatif (DMSO)

Lampiran 19. Perhitungan Statistik Hasil Uji KHM Ekstrak Kloroform Pare belut

Tabel data yang dimasukkan pada uji statistik KHM ekstrak kloroform

	Name	Type	Width	Decimals	Label	Values	Missing	Column	Align	Measure
1	C. albica	Numeric	8	4	Diameter hambat	None	None	8	Right	Scale
2	Konst.K	Numeric	8	4	None	None	None	8	Right	Scale

Keterangan :

Variabel tergantung/dependent : Diameter hambat

Variabel bebas/independent : Konst.K

Konst.K	Diameter hambat
100mg/ml	10,40
100mg/ml	10,82
50 mg/ml	9,76
50 mg/ml	9,60
25mg/ml	8,73
25mg/ml	8,88
12,5 mg/ml	8,05
12,5 mg/ml	8,10
6,25 mg/ml	6,36
6,25 mg/ml	6,26
3,125 mg/ml	6,00
3,125 mg/ml	6,00

Dari data diameter daerah hambat ekstrak kloroform dapat ditentukan pengaruh variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan *C. albicans*

Oneway KHM ekstrak kloroform

Descriptives

diameter hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
100 mg/mL	2	10.6100	.29698	.21000	7.9417	13.2783	10.40	10.82
50 mg/mL	2	9.6800	.11314	.08000	8.6635	10.6965	9.60	9.76
25 mg/mL	2	8.8050	.10607	.07500	7.8520	9.7580	8.73	8.88
12.5 mg/mL	2	8.0750	.03536	.02500	7.7573	8.3927	8.05	8.10
6.25 mg/mL	2	6.3100	.07071	.05000	5.6747	6.9453	6.26	6.36
3.125 mg/mL	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	8.2467	1.74972	.50510	7.1349	9.3584	6.00	10.82

ANOVA

diameter hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.558	5	6.712	339.832	.000
Within Groups	.119	6	.020		
Total	33.677	11			

Hasil uji lanjutan (LSD)
Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter hambat

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100 mg/mL	50 mg/mL	.93000*	.14053	.001	.5861	1.2739
	25 mg/mL	1.80500*	.14053	.000	1.4611	2.1489
	12.5 mg/mL	2.53500*	.14053	.000	2.1911	2.8789
	6.25 mg/mL	4.30000*	.14053	.000	3.9561	4.6439
	3.125 mg/mL	4.61000*	.14053	.000	4.2661	4.9539
50 mg/mL	100 mg/mL	-.93000*	.14053	.001	-1.2739	-.5861
	25 mg/mL	.87500*	.14053	.001	.5311	1.2189
	12.5 mg/mL	1.60500*	.14053	.000	1.2611	1.9489
	6.25 mg/mL	3.37000*	.14053	.000	3.0261	3.7139
	3.125 mg/mL	3.68000*	.14053	.000	3.3361	4.0239
25 mg/mL	100 mg/mL	-1.80500*	.14053	.000	-2.1489	-1.4611
	50 mg/mL	-.87500*	.14053	.001	-1.2189	-.5311
	12.5 mg/mL	.73000*	.14053	.002	.3861	1.0739
	6.25 mg/mL	2.49500*	.14053	.000	2.1511	2.8389
	3.125 mg/mL	2.80500*	.14053	.000	2.4611	3.1489
12.5 mg/mL	100 mg/mL	-2.53500*	.14053	.000	-2.8789	-2.1911
	50 mg/mL	-1.60500*	.14053	.000	-1.9489	-1.2611
	25 mg/mL	-.73000*	.14053	.002	-1.0739	-.3861
	6.25 mg/mL	1.76500*	.14053	.000	1.4211	2.1089
	3.125 mg/mL	2.07500*	.14053	.000	1.7311	2.4189
6.25 mg/mL	100 mg/mL	-4.30000*	.14053	.000	-4.6439	-3.9561
	50 mg/mL	-3.37000*	.14053	.000	-3.7139	-3.0261
	25 mg/mL	-2.49500*	.14053	.000	-2.8389	-2.1511
	12.5 mg/mL	-1.76500*	.14053	.000	-2.1089	-1.4211
	3.125 mg/mL	.31000	.14053	.070	-.0339	.6539
3.125 mg/mL	100 mg/mL	-4.61000*	.14053	.000	-4.9539	-4.2661
	50 mg/mL	-3.68000*	.14053	.000	-4.0239	-3.3361
	25 mg/mL	-2.80500*	.14053	.000	-3.1489	-2.4611
	12.5 mg/mL	-2.07500*	.14053	.000	-2.4189	-1.7311
	6.25 mg/mL	-.31000	.14053	.070	-.6539	.0339

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 20. Hasil Uji KHM Mikonazol

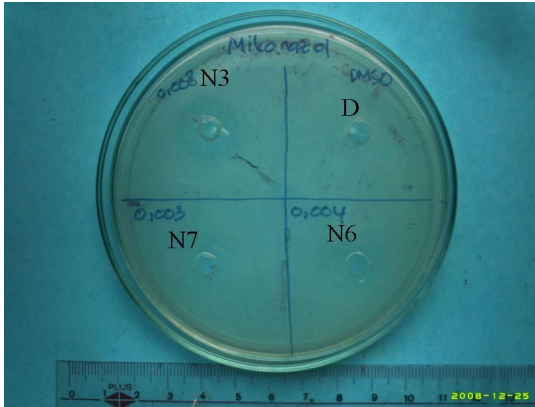
Data diameter daerah hambat standar mikonazol terhadap *C. albicans*

Konsentrasi (mg/mL)	Diameter Hambat (mm)			Keterangan
	χ_1	χ_2	$\chi \pm \sigma_{n-1}$	
0,2	18,29	18,18	$18,24 \pm 0,08$	Lampiran 21, Gambar e2
0,1	16,22	16,02	$16,13 \pm 0,14$	Lampiran 21, Gambar e3
0,08	14,44	14,73	$14,58 \pm 0,20$	Lampiran 21, Gambar e1
0,06	13,42	13,43	$13,42 \pm 0,01$	Lampiran 21, Gambar e3
0,05	12,57	12,43	$12,78 \pm 0,30$	Lampiran 21, Gambar e2
0,04	9,67	9,53	$9,60 \pm 0,10$	Lampiran 21, Gambar e1
0,03	8,14	7,87	$8,00 \pm 0,19$	Lampiran 21, Gambar e1
0,02	7,42	7,46	$7,44 \pm 0,32$	Lampiran 21, Gambar e3
0,01	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$	Lampiran 21, Gambar e2

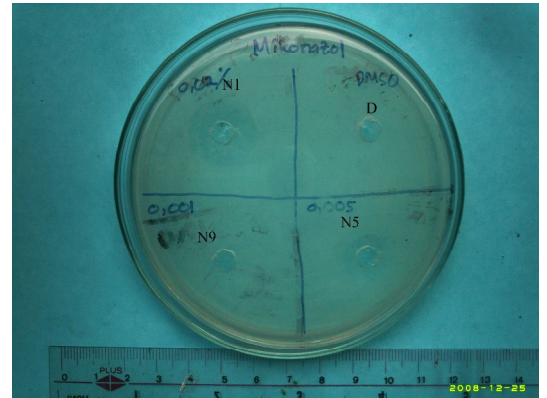
Keterangan : Diameter lubang = 6 mm

X1 , X2 = diameter hambat pada lubang ke-1 dan 2

Lampiran 21. Foto Hasil Uji KHM Mikonazol



Gambar e1



Gambar e2



Gambar e3

Keterangan : Diameter daerah hambatan standar mikonazol terhadap *C. albicans*

- Gb e1: N3= konsentrasi sampel $1,6 \cdot 10^3$
 N6= konsentrasi sampel $8 \cdot 10^4$ mg/lubang
 N7= konsentrasi sampel $6 \cdot 10^4$ mg/lubang
 Gb e2: N1= konsentrasi sampel $4 \cdot 10^3$ mg/lubang
 N9= konsentrasi sampel $2 \cdot 10^4$ mg/lubang
 N5= konsentrasi sampel $1 \cdot 10^3$ mg/lubang
 Gb e2: N2= konsentrasi sampel $2 \cdot 10^3$ mg/lubang
 N4= konsentrasi sampel $1,2 \cdot 10^3$ mg/lubang
 N8= konsentrasi sampel $4 \cdot 10^4$ mg/lubang
 D= kontrol negatif (DMSO)

Lampiran 22. Perhitungan Statistik Hasil Uji KHM Standar Mikonazol

Tabel data yang dimasukkan pada uji KHM standar mikonazol.

	Name	Type	Width	Decimals	Label	Values	Missing	Column	Align	Measure
1	C. albica	Numerical	8	4	None	None	None	8	Right	Scale
2	Kons.std	Numerical	8	4	None	None	None	8	Right	Scale

Keterangan :

Variabel tergantung/dependent : Diameter hambat

Variabel bebas/independent : Kons.std

Kons.std	Diameter hambat
0,004 mg/lubang	18,29
0,004 mg/lubang	18,18
0,002 mg/lubang	16,22
0,002 mg/lubang	16,02
0,0016 mg/lubang	14,44
0,0016 mg/lubang	14,73
0,0012 mg/lubang	13,42
0,0012 mg/lubang	13,43
0,001 mg/lubang	12,57
0,001 mg/lubang	12,99
0,0008 mg/lubang	9,67
0,0008 mg/lubang	9,53
0,0006 mg/lubang	7,14
0,0006 mg/lubang	7,87
0,0004 mg/lubang	7,42
0,0004 mg/lubang	7,46
0,0002 mg/lubang	6,00
0,0002 mg/lubang	6,00

Dari data diameter daerah hambat standar mikonazol dapat diketahui pengaruh variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Oneway KHM mikonazol

Descriptives

diameter hambat								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.004mg/lubang	2	18.2350	.07778	.05500	17.5362	18.9338	18.18	18.29
0.002mg/lubang	2	16.1200	.14142	.10000	14.8494	17.3906	16.02	16.22
0.0016mg/lubang	2	14.5850	.20506	.14500	12.7426	16.4274	14.44	14.73
0.0012mg/lubang	2	13.4250	.00707	.00500	13.3615	13.4885	13.42	13.43
0.001mg/lubang	2	12.7800	.29698	.21000	10.1117	15.4483	12.57	12.99
0.0008mg/lubang	2	9.6000	.09899	.07000	8.7106	10.4894	9.53	9.67
0.0006mg/lubang	2	8.0050	.19092	.13500	6.2897	9.7203	7.87	8.14
0.0004mg/lubang	2	7.4400	.02828	.02000	7.1859	7.6941	7.42	7.46
0.0002mg/lubang	2	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	18	11.7989	4.10770	.96819	9.7562	13.8416	6.00	18.29

ANOVA

diameter hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	286.641	8	35.830	1585.404	.000
Within Groups	.203	9	.023		
Total	286.844	17			

Hasil uji lanjut (LSD) Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter hambatan
LSD

(I) kons.std	(J) kons.std	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0.004mg/lubang	0.002mg/lubang	2.11500*	.15033	.000	1.7749	2.4551
	0.0016mg/lubang	3.65000*	.15033	.000	3.3099	3.9901
	0.0012mg/lubang	4.81000*	.15033	.000	4.4699	5.1501
	0.001mg/lubang	5.45500*	.15033	.000	5.1149	5.7951
	0.0008mg/lubang	8.63500*	.15033	.000	8.2949	8.9751
	0.0006mg/lubang	10.23000*	.15033	.000	9.8899	10.5701
	0.0004mg/lubang	10.79500*	.15033	.000	10.4549	11.1351
	0.0002mg/lubang	12.23500*	.15033	.000	11.8949	12.5751
0.002mg/lubang	0.004mg/lubang	-2.11500*	.15033	.000	-2.4551	-1.7749
	0.0016mg/lubang	1.53500*	.15033	.000	1.1949	1.8751
	0.0012mg/lubang	2.69500*	.15033	.000	2.3549	3.0351
	0.001mg/lubang	3.34000*	.15033	.000	2.9999	3.6801
	0.0008mg/lubang	6.52000*	.15033	.000	6.1799	6.8601
	0.0006mg/lubang	8.11500*	.15033	.000	7.7749	8.4551
	0.0004mg/lubang	8.68000*	.15033	.000	8.3399	9.0201
	0.0002mg/lubang	10.12000*	.15033	.000	9.7799	10.4601
0.0016mg/lubang	0.004mg/lubang	-3.65000*	.15033	.000	-3.9901	-3.3099
	0.002mg/lubang	-1.53500*	.15033	.000	-1.8751	-1.1949
	0.0012mg/lubang	1.16000*	.15033	.000	.8199	1.5001
	0.001mg/lubang	1.80500*	.15033	.000	1.4649	2.1451
	0.0008mg/lubang	4.98500*	.15033	.000	4.6449	5.3251
	0.0006mg/lubang	6.58000*	.15033	.000	6.2399	6.9201
	0.0004mg/lubang	7.14500*	.15033	.000	6.8049	7.4851
	0.0002mg/lubang	8.58500*	.15033	.000	8.2449	8.9251
0.0012mg/lubang	0.004mg/lubang	-4.81000*	.15033	.000	-5.1501	-4.4699
	0.002mg/lubang	-2.69500*	.15033	.000	-3.0351	-2.3549
	0.0016mg/lubang	-1.16000*	.15033	.000	-1.5001	-.8199
	0.001mg/lubang	.64500*	.15033	.002	.3049	.9851
	0.0008mg/lubang	3.82500*	.15033	.000	3.4849	4.1651
	0.0006mg/lubang	5.42000*	.15033	.000	5.0799	5.7601
	0.0004mg/lubang	5.98500*	.15033	.000	5.6449	6.3251
	0.0002mg/lubang	7.42500*	.15033	.000	7.0849	7.7651
0.001mg/lubang	0.004mg/lubang	-5.45500*	.15033	.000	-5.7951	-5.1149
	0.002mg/lubang	-3.34000*	.15033	.000	-3.6801	-2.9999
	0.0016mg/lubang	-1.80500*	.15033	.000	-2.1451	-1.4649
	0.0012mg/lubang	-.64500*	.15033	.002	-.9851	-.3049
	0.0008mg/lubang	3.18000*	.15033	.000	2.8399	3.5201
	0.0006mg/lubang	4.77500*	.15033	.000	4.4349	5.1151
	0.0004mg/lubang	5.34000*	.15033	.000	4.9999	5.6801
	0.0002mg/lubang	6.78000*	.15033	.000	6.4399	7.1201
0.0008mg/lubang	0.004mg/lubang	-8.63500*	.15033	.000	-8.9751	-8.2949
	0.002mg/lubang	-6.52000*	.15033	.000	-6.8601	-6.1799
	0.0016mg/lubang	-4.98500*	.15033	.000	-5.3251	-4.6449
	0.0012mg/lubang	-3.82500*	.15033	.000	-4.1651	-3.4849
	0.001mg/lubang	-3.18000*	.15033	.000	-3.5201	-2.8399
	0.0006mg/lubang	1.59500*	.15033	.000	1.2549	1.9351
	0.0004mg/lubang	2.16000*	.15033	.000	1.8199	2.5001
	0.0002mg/lubang	3.60000*	.15033	.000	3.2599	3.9401
0.0006mg/lubang	0.004mg/lubang	-10.23000*	.15033	.000	-10.5701	-9.8899
	0.002mg/lubang	-8.11500*	.15033	.000	-8.4551	-7.7749
	0.0016mg/lubang	-6.58000*	.15033	.000	-6.9201	-6.2399
	0.0012mg/lubang	-5.42000*	.15033	.000	-5.7601	-5.0799
	0.001mg/lubang	-4.77500*	.15033	.000	-5.1151	-4.4349
	0.0008mg/lubang	-1.59500*	.15033	.000	-1.9351	-1.2549
	0.0004mg/lubang	.56500*	.15033	.004	.2249	.9051
	0.0002mg/lubang	2.00500*	.15033	.000	1.6649	2.3451
0.0004mg/lubang	0.004mg/lubang	-10.79500*	.15033	.000	-11.1351	-10.4549
	0.002mg/lubang	-8.68000*	.15033	.000	-9.0201	-8.3399
	0.0016mg/lubang	-7.14500*	.15033	.000	-7.4851	-6.8049
	0.0012mg/lubang	-5.98500*	.15033	.000	-6.3251	-5.6449
	0.001mg/lubang	-5.34000*	.15033	.000	-5.6801	-4.9999
	0.0008mg/lubang	-2.16000*	.15033	.000	-2.5001	-1.8199
	0.0006mg/lubang	-.56500*	.15033	.004	-.9051	-.2249
	0.0002mg/lubang	1.44000*	.15033	.000	1.0999	1.7801
0.0002mg/lubang	0.004mg/lubang	-12.23500*	.15033	.000	-12.5751	-11.8949
	0.002mg/lubang	-10.12000*	.15033	.000	-10.4601	-9.7799
	0.0016mg/lubang	-8.58500*	.15033	.000	-8.9251	-8.2449
	0.0012mg/lubang	-7.42500*	.15033	.000	-7.7651	-7.0849
	0.001mg/lubang	-6.78000*	.15033	.000	-7.1201	-6.4399
	0.0008mg/lubang	-3.60000*	.15033	.000	-3.9401	-3.2599
	0.0006mg/lubang	-2.00500*	.15033	.000	-2.3451	-1.6649
	0.0004mg/lubang	-1.44000*	.15033	.000	-1.7801	-1.0999

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 23. Perhitungan Konsentrasi Mikonazol dengan Kurva Standar

Dari nilai diameter hambat ekstrak kloroform pada konsentrasi 100 mg/mL yaitu 10,61 mm diplotkan pada kurva standar mikonazol $y = 10,593x + 25,852$; $R^2 = 0,9395$ diperoleh nilai konsentrasi mikonazol 0,036 mg/mL.

$$y = 10,593x + 25,852$$

$$10,61 = 10,593x + 25,852$$

$$x = -1,438$$

$$\text{antilog } x = 0,036$$

Lampiran 24. Penetapan Nilai Uji Banding

Penetapan nilai banding aktivitas antijamur ekstrak kloroform buah pare belut terhadap *C. albicans* sebagai berikut:

1. Nilai diameter hambat ekstrak kloroform pada konsentrasi 100 mg/mL = 10,61 mm
2. Konsentrasi mikonazol pada diameter 10,61 dihitung dengan persamaan garis (Lampiran 23) = 0,036 mg/mL
3. Nilai uji banding ekstrak kloroform terhadap mikonazol dapat dihitung dengan rumus :

Nilai Banding =

$$\frac{\text{Konsentrasi antijamur standar dari kurva pada diameter hambatan y}}{\text{Konsentrasi ekstrak aktif yang digunakan pada diameter hambatan y}} \times 100\%$$

Penetapan Nilai Uji Banding Ekstrak Kloroform

$$\begin{aligned}\text{Nilai uji banding} &= \frac{0,036}{100} \times 100 \% \\ &= 0,036 \%\end{aligned}$$